



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2011

**Manuel António
Martins da Silva**

**Métodos químicos de modificação superficial de
nanomateriais**



**Manuel António
Martins da Silva**

Métodos químicos de modificação superficial de nanomateriais

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Tito da Silva Trindade, Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Apoio financeiro do POCTI no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio.



Apoio financeiro da FCT e do FSE no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio.



A minha irmã

*When you make the finding yourself,
even if you're the last person on Earth to see the light,
you'll never forget it.*

Carl Sagan

o júri

presidente

Nelson Fernando Pacheco da Rocha

Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

Arturo López Quintela

Professor Catedrático da Faculdade de Química da Universidade de Santiago de Compostela

Maria Helena Mendes Gil

Professora Catedrática da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

João Carlos Matias Celestino Gomes da Rocha

Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

José Ricardo Ramos Franco Tavares

Professor Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Ana Margarida Madeira Viegas de Barros Timmons

Professora Auxiliar da Universidade de Aveiro

Tito da Silva Trindade

Professor Associado com Agregação da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Aproveito este espaço para exprimir os meus sinceros agradecimentos a todas as pessoas que, de forma directa ou indirecta, contribuíram para a realização deste trabalho. Em primeiro lugar quero deixar uma palavra de gratidão ao meu orientador, Professor Tito Trindade, pela sua disponibilidade, orientação, confiança e oportunidade dada.

Quero agradecer o apoio financeiro da Fundação para a Ciência e a Tecnologia pelo projecto: PTDC / QUI / 67712 / 2006, e pela bolsa de doutoramento concedida (SFRH / BD / 29475 / 2006).

Aos meus primeiros colegas de laboratório: Ângela Pereira, Márcia Neves e Ana Catarina Esteves, pela sua ajuda no início do meu doutoramento.

Aos meus colegas do “Lab do Manel”, Carla Anjos, Susana Aveiro, Cláudio Santos, Sara Fateixa, Ana Violeta Girão e Paula Figueira, pelo ambiente e amizade no período mais feliz e produtivo desta etapa da minha carreira.

À Paula Santos, Marco Peres, Rute Sá Ferreira, Teresa Monteiro e Luís Carlos pela ajuda na medição das propriedades de fotoluminescência destes materiais interessantes. Ao António Jorge Guiomar (UC) pela ajuda na biofuncionalização dos materiais. Ao Nuno João Silva, Vítor Amaral e Penka Girginova pela ajuda na medição e interpretação das propriedades magnéticas. Ao Pedro Jorge (INESC-Porto) pelo trabalho de funcionalização de fibras ópticas. Ao Carlos Sá (CEMUP) pelas medidas de XPS. Ao Stanislav Ferdov e Carlos Tavares (SEMAT/UM) pelas medidas de SAXS. À Celeste Azevedo por todo o apoio prestado nos diversos equipamentos do Departamento de Química. À Rosário Soares pela ajuda na caracterização de raios-X. Ao Augusto Lopes, Marta Ferro, Protima Rauwel, Nicola Pinna e Ana Violeta Girão pela ajuda na microscopia. Um agradecimento especial à Sara Fateixa pela ajuda na preparação dos nanocompósitos de Ouro.

Agradeço também à Rosário Correia pela disponibilidade, ajuda incasável e pelas discussões produtivas. Ao Sérgio Pereira pelos conhecimentos transmitidos e pelo seu espírito sempre crítico e desafiador. Ana Barros-Timmons pela sua amizade e apoio ao longo dos últimos anos.

Agradeço também em particular a alguns colegas que pelo companheirismo e entreajuda, foram de especial importância no decorrer deste trabalho: ao Carlos Granadeiro, Ricardo Pinto, Mohamed Karmaoui, Ana Violeta Girão, Nuno João Silva, Sérgio Pereira, Paula Santos, Rosário Correia e Filipe Oliveira um especial obrigado.

Um agradecimento especial à Paula Figueira que me apoiou com carinho e entusiasmo em todos os momentos. À minha família que sempre apoiou este meu sonho incondicionalmente.

Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.

Antoine de Saint-Exupéry

palavras-chave

Nanopartículas, Nanocompósitos, Semicondutores, Metais nobres, Nanopartículas magnéticas, Modificação química superficial, Biofuncionalização.

resumo

O objectivo geral desta tese foi investigar diversas estratégias de síntese de nanocompósitos híbridos de matriz polimérica, contendo nanopartículas inorgânicas com funcionalidades diversas. O interesse nestes nanocompósitos multifuncionais consiste no enorme potencial que apresentam para novas aplicações tecnológicas, tais como em optoelectrónica ou em medicina.

No capítulo introdutório, apresenta-se uma revisão das propriedades de nanopartículas inorgânicas e nanoestruturas obtidas a partir destas, métodos de preparação e de modificação química superficial, incluindo a formação de nanocompósitos poliméricos, bem como a aplicação destas nanoestruturas em medicina e biologia.

O estudo das propriedades de nanopartículas de ouro é um importante tema em Nanociência e Nanotecnologia. As propriedades singulares destas NPs apresentam uma estreita relação com o tamanho, morfologia, arranjo espacial e propriedades dieléctricas do meio circundante. No capítulo 2, é reportada a preparação de nanocompósitos utilizando miniemulsões de poli-estireno (PS) e poli-acrilato de butilo (PBA) contendo nanopartículas de ouro revestidas com moléculas orgânicas. As propriedades ópticas destas estruturas híbridas são dominadas por efeitos plasmónicos e dependem de uma forma crítica na morfologia final dos nanocompósitos. Em particular, demonstra-se aqui a possibilidade de ajustar a resposta óptica, na região do visível do espectro, através do arranjo das nanopartículas na matriz polimérica, e consequentemente o acoplamento plasmónico, utilizando nanopartículas resultantes da mesma síntese. Na generalidade, é reportada aqui uma estratégia alternativa para modificar a resposta óptica de nanocompósitos, através do controlo da morfologia do compósito final face à estratégia mais comum que envolve o controlo das características morfológicas das partículas metálicas utilizadas como materiais de partida.

No Capítulo 3 apresentam-se os resultados da preparação de vários compósitos poliméricos com propriedades magnéticas de interesse prático. Em particular discute-se a síntese e propriedades magnéticas de nanopartículas de ligas metálicas de cobalto-platina (CoPt_3) e ferro-platina (FePt_3), assim como de óxidos de ferro (magnetite Fe_3O_4 e maguemite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e respectivos nanocompósitos poliméricos. A estratégia aqui descrita constitui uma via interessante de desenvolver materiais nanocompósitos com potencial aplicação em ensaios de análise de entidades biológicas *in vitro*, que pode ser estendido a outros materiais magnéticos. Como prova de conceito, demonstra-se a bioconjugação de nanocompósitos de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$ com anticorpos IgG de bovino.

resumo (cont.)

No capítulo 4 é descrita a preparação e propriedades ópticas de pontos quânticos (“quantum dots”, QDs) de CdSe/ZnS assim como dos seus materiais nanocompósitos poliméricos, CdSe/ZnS-PBA. Como resultado das suas propriedades ópticas singulares, os QDs têm sido extensivamente investigados como materiais inorgânicos para aplicações em dispositivos ópticos. A incorporação de QDs em matrizes poliméricas é de particular interesse, nomeadamente devido ao comportamento óptico do nanocompósito final parecer estar dependente do tipo de polímero utilizado. As propriedades ópticas dos nanocompósitos foram estudadas sistematicamente por medidas de fotoluminescência. Os nanocompósitos apresentam propriedades interessantes para potenciais aplicações biológicas em diagnóstico *in vitro*, funcionando como sondas biológicas luminescentes.

keywords

Nanoparticles, Nanocomposites, Semiconductors, Noble Metals, Magnetic Nanoparticles, Surface chemical modification, Biofunctionalization.

abstract

The aim of this thesis was to investigate distinct synthetic strategies for the preparation of polymer based hybrid nanocomposites, with functional inorganic nanoparticles as fillers. The interest of these multifunctional nanocomposites relies on their enormous potential for technological applications, as in optoelectronics and in medicine.

The introductory chapter is a critical review focused on the properties, synthesis methods, surface modification and application in medicine and biology of inorganic nanoparticles and their derived nanostructures, which includes polymer based nanocomposites.

The study of the properties of gold nanoparticles is an important issue in Nanoscience and Nanotechnology. The singular properties of these nanoparticles show a close relation with size, shape, spatial distribution and with the dielectric properties of the surrounding medium. In the second chapter, we report the synthesis of morphological uniform composites using miniemulsions of poly(butyl acrylate) (PBA) or poly(styrene) (PS), containing organically capped gold nanocrystals (NCs). The optical features of such hybrid structures are dominated by plasmonic effects and depend critically on the morphology of the resulting nanocomposite. In particular, we demonstrate the ability to tune the overall optical response in the visible spectral region by varying the Au NCs arrangement within the polymer matrix, and therefore the inter-particle plasmon coupling, using Au NCs resulting from the same batch of synthesis. In general, the research reported here shows a general strategy to produce optical responsive nanocomposites via control of the morphology of sub-micrometric polymer particles containing metal NCs and thus is an alternative to the more common strategy of size tuning metal nanoparticles used as the starting nano-fillers.

In the third chapter, the synthesis of magnetic functional polymeric nanocomposites is reported. The synthetic method and magnetic properties of metal alloy nanoparticles (CoPt_3 and FePt_3), as well as iron oxide nanoparticles (magnetite Fe_3O_4 and maghemite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) and respective polymeric nanocomposites, is discussed. The present strategy is an interesting route to develop nanocomposite materials for *in vitro* biological assay, which can be extended to other magnetic materials. As a proof of concept, the bioconjugation of bovine IgG antibodies to $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$ nanocomposites is presented.

abstract (cont.)

Chapter 4 reports the synthesis and optical properties of quantum dots (QDs), CdSe/ZnS as well as their derived hybrid nanocomposites of CdSe/ZnS-PBA. As a result of their unique optical properties, QDs have been extensively investigated as inorganic materials for applications in optical devices. The incorporation of QDs into polymer matrices is of particular interest, especially due to the optical behaviour of the final nanocomposite appears to be dependent on the type of polymer used. The optical properties of nanocomposites were systematically studied by photoluminescence measurements. The nanocomposites exhibit interesting properties and their potential for *in vitro* clinical diagnostics will be discussed.

Índice

Índice de figuras	xiii
Índice de tabelas	xxv
Abreviaturas e símbolos	xxvi
1. Introdução	1
1.1. Introdução geral	3
A “revolução nano”	3
Nanociência	7
A promessa “nano” em biotecnologia: a nanobiotecnologia.	7
1.2. Propriedades de NPs em função do tamanho	8
Nanopartículas semicondutoras - Pontos quânticos	11
Nanopartículas metálicas	18
Nanopartículas magnéticas	23
1.3. Preparação de NPs em soluções coloidais – generalidades	26
Síntese de NPs semicondutoras – QDs	32
Síntese de nanopartículas metálicas	36
Síntese de nanopartículas magnéticas	39
1.4. Modificação superficial de NPs	41
1.5. Métodos de bioconjugação e aplicações biológicas de NPs	52
Aplicações biológicas de NPs	59
1.6. Enquadramento e objectivos deste trabalho	72
1.7. Referências	74

2. Nanocompósitos de Ouro-Polímero	97
2.1. Introdução	99
2.2. Resultados e discussão	102
Síntese e modificação superficial de NPs de Au	102
Nanocompósitos de Au - Polímero	106
2.3. Conclusões	121
2.4. Referências	122
 3. Nanocompósitos magnéticos – polímero	 125
3.1. Introdução	127
3.2. Ligas metálicas de CoPt ₃ e FePt ₃	129
3.3. Nanocompósitos de ligas metálicas – polímero	133
Propriedades magnéticas	138
Bioconjugação	146
3.4. Óxidos de Ferro: magnetite e maghemite	149
3.5. Compósitos óxidos de ferro – polímero	154
Propriedades magnéticas	167
3.6. Conclusões	170
3.7. Referencias	172
 4. Nanocompósitos de QDs – Polímero	 179
4.1. Introdução	181
4.2. Resultados e discussão	183
Síntese e modificação superficial de QDs de CdSe	183
Encapsulamento de NPs luminescentes em matrizes poliméricas	191
Dependência das propriedades de PL com a temperatura	204

Aplicação em sensores baseados em fibras ópticas	209
4.3. Conclusões	212
4.4. Referências	214
5. Conclusões	219
5.1. Conclusões gerais	221
5.2. Trabalho futuro	224
6. Experimental	227
6.1. Breve nota sobre a segurança laboratorial e nanomateriais	229
6.2. Reagentes	230
6.3. Métodos de síntese	232
Capítulo 2	232
Capítulo 3	234
Capítulo 4	237
6.4. Técnicas e métodos de caracterização	239
6.5. Referências	245

Índice de Figuras

Capítulo 1

Figura 1.1. Na figura da esquerda, o primeiro microscópio electrónico de transmissão produzido em série pela Siemens em 1939; à direita: Uma das primeiras fotografias de microscopia electrónica de transmissão: A superfície da asa de uma mosca doméstica.

5

Figura 1.2. (a) Heinrich Rohrer e Gerd K. Binnig, cientistas do laboratório de pesquisa da IBM em Zurich, foram galardoados com o prémio Nobel da física em 1986, pelo seu trabalho no desenvolvimento do microscópio de efeito túnel (STM). (b) Uma das primeiras imagens obtidas por STM mostra átomos superficiais de silício com um aumento de 20 milhões de vezes.

6

Figura 1.3. Cientistas no IBM descobriram como posicionar átomos individuais numa superfície metálica utilizando um microscópio de efeito túnel (STM). Esta técnica foi demonstrada em Abril de 1990 e os cientistas escreveram pela primeira vez as iniciais I-B-M, um átomo de cada vez.

6

Figura 1.4. A escala “Nano”: Materiais da natureza vs Materiais sintéticos.

9

Figura 1.5. Evolução da área superficial com a diminuição das dimensões de partícula.

10

Figura 1.6. Variação do ponto de fusão de NPs de ouro em função do tamanho.

10

Figura 1.7. Os níveis electrónicos dependem do número de átomos combinados. Ao associar mais átomos na estrutura, os níveis de energia discretos das orbitais atómicas fundem-se em bandas de energia (na figura representado para um material semiconductor). Desta forma os QDs são materiais intermédios entre pequenas moléculas e o material cristalino macroscópico.

12

Figura 1.8. Mecanismos de ajuste da energia do hiato óptico em QDs.

14

Figura 1.9. Gama de cores (de emissão) que podem ser obtidas utilizando QDs de diferente composição e/ou tamanho.

15

Figura 1.10. A “cor” da emissão dos QDs de CdSe pode ser afinada de forma a varrer o espectro do visível. (A) apresentam-se soluções de QDs de CdSe (revestidos com ZnS) com diferentes tamanhos (de cerca de 2 a pouco mais de 8 nm) e (B) os respectivos espectros de fotoluminescência.	15
Figura 1.11. As propriedades ópticas de QDs são influenciadas pelos estados de superfície.	17
Figura 1.12. Anatomia de um “ponto quântico” (QD).	18
Figura 1.13. Fotografias do famoso cálice de lycurgus (“lycurgus cup”) em exposição no museu britânico em Londres. O vidro apresenta uma cor verde, resultante da luz reflectida (foto da esquerda), mas quando iluminado a partir do interior apresenta uma cor vermelha resultante da luz transmitida (foto da direita).	19
Figura 1.14. Solução coloidal de ouro de cor rubi de Faraday.	20
Figura 1.15. Sob o efeito do campo eléctrico incidente, a nuvem electrónica das NPs metálicas vai oscilar criando um dipolo eléctrico.	21
Figura 1.16. Factores que afectam a frequência de ressonância plasmónica: (a) diâmetro das NPs; (b) razão de aspecto em nanobastonetes; (c) separação entre NPs e (d) índice de refacção do meio em que as NPs se encontram. (a e d) Espectros ópticos obtidos pela simulação das condições apresentadas utilizando o software MiePlot v4.1 ou (b e d) espectros obtidos a partir de resultados experimentais.	22
Figura 1.17. Diferentes tipos de comportamento magnético.	25
Figura 1.18. Variação da coercibilidade da partícula em função do seu tamanho. A coercibilidade é máxima para um tamanho de partícula crítico, d_c , que corresponde à transição de uma estrutura multi- para mono-domínio. A coercibilidade é nula para NPs superparamagnéticas.	26
Figura 1.19. Esquema representativo da variação da energia livre de Gibbs.	28

Figura 1.20. Esquema representativo da influência da sobressaturação inicial do sistema nos processos de crescimento.

31

Figura 1.21. Esquema da polimerização em miniemulsão.

48

Figura 1.22. Esquema dos métodos de modificação superficial e funcionalização de NPs.

51

Figura 1.23. Esquema representativo dos diferentes tipos de bioconjugação: a) ligação química covalente; b) Ligação utilizando intermediários biológicos (A: Avidina, B: Biotina); c) interacção hidrofóbica (adsorção) e d) interacção electrostática.

52

Figura 1.24. Esquema representativo da reacção de bioconjugação utilizando carbodiimidas.

54

Figura 1.25. As NPs com grupos amina primários à superfície podem reagir com grupos éster activos formando ligações amida. O Sulfo-SMCC é um agente bifuncional que possui um grupo sulfo-NHS e uma função maleimida na outra ponta que é reactiva na presença de grupos tiol.

55

Figura 1.26. A reacção do tipo “click” ocorre por cicloadição alcino-alzida catalizada por Cu(I), resultando na formação de uma ligação cíclica 1,2,3-triazole.

56

Figura 1.27. Esquema da bioconjugação através de um resíduo de histidina. A ligação à superfície da NP é mediada através de um complexo de coordenação com um catião metálico (em geral, Ni(II) com o grupo acetato de nitrilo, Ni-NTA).

58

Figura 1.28. Comparação entre os espectros de absorvância e de fluorescência de um corante orgânico (isotiocianato de fluoresceína FITC, à esquerda) e de QDs de selenieto de cádmio (CdSe, à direita) com comprimentos de onda de emissão idênticos. O tamanho relativo destes dois materiais é também ilustrado.

63

Figura 1.29. Imagem de células epiteliais humanas construída a partir de imagens individuais utilizando QDs com cinco cores diferentes: QDs com emissão a 655 nm (Cyan) marcam o núcleo, QDs 605 nm (magenta) marcam a proteína Ki-67, QDs 525 nm (laranja) marcam as mitocôndrias, QDs 565nm marcam os microtúbulos e QDs 705 nm (vermelho) marcam os filamentos de actina.

64

Figura 1.30. Comparação da estabilidade dos QDs com um corante orgânico sujeito a excitação óptica. Na linha superior os antigénios nucleares foram marcados com QDs (com emissão a 630nm, de cor vermelha) conjugados com Estreptavidina e os microtúbulos foram marcados com um corante orgânico, AlexaFluor 488 (verde) simultaneamente numa célula 3T3. Na linha inferior os microtúbulos foram marcados com QDs-Estreptavidina (630nm, vermelho) e os antigénios nucleares com cor verde do corante Alexa 488. O tempo de exposição representado é em segundos.

65

Figura 1.31. Esquema representativo da construção da livreria de códigos de QDs, utilizando 3 cores e diferentes concentrações de QDs.

66

Capítulo 2

Figura 2.1. Imagem de microscopia de transmissão de nanopartículas de ouro.

102

Figura 2.2. Histograma da distribuição de tamanhos: TEM em gráfico de barras e DLS em gráfico de linha.

103

Figura 2.3. Imagem de microscopia de transmissão de nanopartículas de ouro, após substituição das moléculas tensioactivas por TOPO.

104

Figura 2.4. Espectro de FTIR das NPs de Au revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.

105

Figura 2.5. Espectros de FTIR das NPs de Au após substituição das moléculas à superfície.

106

Figura 2.6. À esquerda, espectros no visível de pós de nanocompósito de Au/PtBA e de absorção do coloide de Au original, respectivamente. À direita, fotografia do coloide de ouro em tolueno (de cor vermelha rubi) e a emulsão de Au/PtBA (de cor púrpura).	107
Figura 2.7. Difractograma de raios-X de pós do nanocompósito Au/PtBA.	108
Figura 2.8. Espectros de FTIR dos nanocompósitos Au/PtBA e de PtBA puro.	108
Figura 2.9. Imagens de TEM dos nanocompósitos de Au/PtBA. Na figura da direita assinala-se a presença de uma capa polimérica.	109
Figura 2.10. (a) Imagem de SEM e mapa de composição de EDX (b) do elemento Au (cor vermelha) em esferas de nanocompósito Au/PtBA. Correspondente distribuição do conteúdo de ouro ao longo de uma linha longitudinal próxima do centro da partícula compósita.	109
Figura 2.11. Imagem de SEM de uma partícula fracturada de compósito Au/PtBA, e vista em detalhe do corte longitudinal.	110
Figura 2.12. Imagens de SEM de partículas de Au/PtBA obtidas após tratamento térmico.	111
Figura 2.13. Espectros de UV-Vis e imagens de TEM correspondentes as NPs de Au (___) e ao nanocompósito de Au/PtBA antes (----) e após tratamento com THF (....).	112
Figura 2.14. Função de distribuição de distâncias, $\rho(r)$ para os nanocompósitos Au-PtBA.	114
Figura 2.15. Espectros de FTIR dos nanocompósitos de Au/TOA/OA/PST e Au/TOPO/PST.	115
Figura 2.16. Imagens de TEM de (a) nanocompósitos de PST contendo NPs de Au/TOA/OA e (b) detalhe do arranjo em anel das NPs de Au.	115

Figura 2.17. À esquerda, espectros no visível de nanocompósito de Au/PS e de absorção do coloide de Au original, respectivamente. À direita, fotografia do coloide de ouro em tolueno (de cor vermelha rubi) e a emulsão de Au/PS (de cor azul).

116

Figura 2.18. Simulação do espectro de extinção óptico para um arranjo em anel de NPs de Au, com diâmetro de partícula de 5 nm, dispostas em anel com um diâmetro de 100 nm. A separação entre partículas é igual a metade o diâmetro, isto é 2.5 nm.

117

Figura 2.19. Imagem de TEM de nanocompósitos de PST contendo NPs de Au/TOPO.

117

Figura 2.20. À esquerda, espectros de visível de pós de nanocompósito de Au/TOPO/PS e de absorção do coloide de Au/TOPO, respectivamente. À direita, fotografia do coloide de ouro em tolueno (de cor vermelha rubi) e a emulsão de Au/PtBA (de cor púrpura).

118

Figura 2.21. Efeito da aplicação conjunta de pressão e temperatura nas propriedades ópticas dos nanocompósitos Au/PtBA. À esquerda: Espectros de reflectância difusa do nanocompósito de Au/PtBA (a) antes e (b) após aplicação conjunta de pressão e temperatura. À direita, fotografia dos nanocompósitos.

120

Capítulo 3

Figura 3.1. Imagem de microscopia de TEM de NPs de CoPt₃ e respectiva distribuição de tamanhos.

130

Figura 3.2. Imagem de microscopia de TEM de NPs de FePt₃ e respectiva distribuição de tamanhos.

131

Figura 3.3. Difractogramas de raios-X de pós de NPs de CoPt₃ e FePt₃.

132

Figura 3.4. Espectros de FTIR das NPs de CoPt₃ revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.

133

Figura 3.5. Espectros de FTIR das NPs de FePt ₃ revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.	133
Figura 3.6. Espectros de FTIR dos NCps de CoPt ₃ /PtBA e FePt ₃ /PtBA.	135
Figura 3.7. Imagens de AFM dos NCps de CoPt ₃ /PtBA: (a) topografia e (b) imagem de fase.	136
Figura 3.8. Imagens de microscopia de TEM dos NCps de CoPt ₃ /PtBA (em detalhe: uma partícula compósita isolada).	137
Figura 3.9. Imagens de AFM de uma partícula de NCps de FePt ₃ /PtBA (a) topografia e (b) imagem de fase.	138
Figura 3.10. Imagens de microscopia de TEM dos NCps de FePt ₃ /PtBA (em detalhe: uma partícula compósita isolada).	138
Figura 3.11. Curvas de arrefecimento na ausência (ZFC) e na presença (FC) de campo externo de 100 Oe, para os NCps de CoPt ₃ /PtBA.	139
Figura 3.12. Curvas de magnetização em função do campo magnético aplicado para o NCp de CoPt ₃ /PtBA: à esquerda a T = 350 K, e à direita a 5, 100 e 200K.	140
Figura 3.13. Possíveis mecanismos de rotação do momento magnético para NPs.	141
Figura 3.14. Tempos de relaxação efectivos (traço contínuo), de relaxação Browniana (tracejado vermelho) e de relaxação de Néel (tracejado verde) em função do diâmetro de NP.	143
Figura 3.15. Componente fora-de-fase da susceptibilidade magnética AC de NPs de CoPt ₃ em pó e dispersas em octano (p.f. ~216 K), adquirido em função da temperatura para a gama de frequências seleccionadas entre 9 e 900 Hz. Embora a concentração de NPs na solução de octano não seja conhecida, as curvas obtidas estão representadas à mesma escala das obtidas para a amostra em pó.	144

Figura 3.16. Curvas ZFC e FC de FePt ₃ e FePt ₃ /PtBA.	145
Figura 3.17. Ciclo de histerese para o NCp de FePt ₃ /PtBA a 5 K.	146
Figura 3.18. Esquema que representa detalhadamente o procedimento de modificação superficial dos NCps de NPs magnéticas-PtBA e bioconjugação com anticorpos. A: Reacção de hidrólise dos grupos éster de tert-butilo e formação dos grupos carboxílicos superficiais B1: Activação da superfície utilizando EDAC e formação do intermediário reactivo de O-acilisoureia. B2: Formação de uma ligação amida entre os grupos carboxílicos à superfície com os grupos amina dos anticorpos.	147
Figura 3.19. Espectros de FTIR dos nanocompósitos (a) antes, (b) depois da hidrólise e (c) após conjugação com anticorpos IgG.	148
Figura 3.20. Imagens de AFM dos nanocompósitos após biofuncionalização com anticorpos, modos de: (a) topografia 3D, (b) amplitude e (c) fase.	149
Figura 3.21. Imagem de microscopia de TEM de NPs de γ -Fe ₂ O ₃ e respectiva distribuição de tamanhos.	150
Figura 3.22. Difractograma de raios-X de pós de NPs de γ -Fe ₂ O ₃ .	151
Figura 3.23. Espectro de FTIR de NPs de γ -Fe ₂ O ₃ revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.	151
Figura 3.24. Imagem de microscopia de TEM de NPs de Fe ₃ O ₄ e respectiva distribuição de tamanhos.	152
Figura 3.25. Difractograma de raios-X de pós de NPs de Fe ₃ O ₄ .	153
Figura 3.26. Espectro de FTIR de NPs de Fe ₃ O ₄ revestidas com moléculas de OAc.	153
Figura 3.27. Imagem de TEM dos NCps de maguemite-PtBA obtidos por miniemulsão.	155

Figura 3.28. Imagens de STEM dos NCps de: (a) magnetite-PtBA (b) de magnetite-PnBA e (d) magnetite-PMMA e (c) imagem de TEM do NCp de magnetite-PS, obtidos por miniemulsão.

157

Figura 3.29. Representação esquemática do encapsulamento de NPs através do processo de polimerização por miniemulsão.

158

Figura 3.30. (a) Suspensões de NPs de magnetite nos diferentes monómeros e (b) respectivos compósitos poliméricos com magnetite.

160

Figura 3.31. Densidade óptica (determinada a $\lambda = 600$ nm) para as NPs de magnetite dispersas em solução dos diferentes monómeros e dos NCps sólidos após polimerização em bloco.

162

Figura 3.32. Representação esquemática do processo de polimerização por miniemulsão diferencial.

164

Figura 3.33. Imagens de STEM (coluna da esquerda) e SEM (coluna da direita) de (a) e (b) NCp de Fe_3O_4 -PMMA; (c) e (d) NCp de Fe_3O_4 -PnBA; (e) e (f) NCp de Fe_3O_4 -PtBA e (g) e (h) NCp de Fe_3O_4 -PS obtidos por polimerização por miniemulsão diferencial.

165

Figura 3.34. Espectro de FTIR dos NCps de magnetite em PMMA obtidos por miniemulsão normal (Fe_3O_4 /PMMA) e diferencial (Fe_3O_4 /PMMA-CS).

166

Figura 3.35. Dependência da susceptibilidade magnética dc com a temperatura.

167

Figura 3.36. Gráficos da magnetização em função do campo magnético a $T=300$ K. As linhas representam o ajuste como descrito no texto.

169

Capítulo 4

Figura 4.1. Espectros ópticos de absorção de soluções de QDs com diferentes tamanhos médios, linha sólida: CdSe (1.89) (linha preta), CdSe (2.02) (linha azul), CdSe (2.25) (linha verde) e CdSe (3.17) (linha vermelha) e respectivos QDs revestidos com uma camada de ZnS, linha tracejada: CdSe/ZnS (1.89) (linha preta), CdSe/ZnS (2.02) (linha azul), CdSe/ZnS (2.25) (linha verde) e CdSe/ZnS (3.17) (linha vermelha). As curvas foram deslocadas no eixo dos yy por questão de clareza.

185

Figura 4.2. Imagens de microscopia (TEM) das NPs: a) de CdSe (CdSe (2.25)) e de b) CdSe/ZnS (QDs (2.25)). Em detalhe, imagem de HRTEM de QDs (2.25).

188

Figura 4.3. Histograma da distribuição de tamanhos de NPs de CdSe (esquerda) e de CdSe/ZnS (direita) obtidas pela análise das imagens de TEM.

189

Figura 4.4. Análise superficial por XPS da região relativa ao elemento Se (3d) de nanopartículas de CdSe (a) guardadas sob atmosfera de azoto e (b) expostas ao ar.

190

Figura 4.5. Análise superficial por XPS, (a e b) da região relativa ao elemento Se (3d) de nanopartículas de CdSe/ZnS (a) guardadas sob atmosfera de azoto e (b) expostas ao ar; (c) região relativa ao elemento Zn (2p_{3/2}) e (d) região relativa ao elemento S (2p).

190

Figura 4.6. Difractogramas de raios-X de pós de QDs de CdSe e de CdSe/ZnS. Representam-se ainda, para comparação, as difracções associadas à fase cúbica de ZnS (esfarelita), à fase hexagonal de ZnS (wurtzite) e à fase hexagonal do CdSe (wurtzite).

191

Figura 4.7. Imagens de TEM dos NCs: à esquerda, QDs (2.25)-PtBA e à direita QDs (3.17)-PtBA.

192

Figura 4.8. Os nanocompósitos de QDs-Polímero apresentam cores intensas quando expostos a luz UV, quer na forma de pó, quer na forma de suspensão aquosa. Da esquerda para a direita: QDs (1.89)-PtBA; QDs (2.02)-PtBA; QDs (2.25)-PtBA e QDs (3.17)-PtBA.

193

Figura 4.9. Espectros ópticos de absorção de soluções de QDs e dos NCs correspondentes e respectivos espectros de emissão: à esquerda, QDs(2.25), QDs(2.25)-PtBA e QDs(2.25)-PnBA; à direita, QDs(3.17) e QDs(3.17)-PtBA.

194

Figura 4.10. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos QDs (2.25) à temperatura ambiente.

195

Figura 4.11. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos QDs (3.17) à temperatura ambiente.	195
Figura 4.12. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs QDs (2.25)-PtBA à temperatura ambiente.	197
Figura 4.13. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs QDs (3.17)-PtBA à temperatura ambiente.	197
Figura 4.14. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs preparados por mistura física dos componentes (QDs (2.25) + PtBA) à temperatura ambiente.	198
Figura 4.15. Estrutura química dos polímeros utilizados para preparar os NCs QDs-Polímero.	199
Figura 4.16. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs QDs (2.25)-PnBA à temperatura ambiente.	200
Figura 4.17. Espectros de emissão (à esquerda, $\lambda_{ex}=380$ nm) e de excitação (à direita, $\lambda_{em}=580$ nm) dos NCs de QDs (2.25) em diferentes matrizes poliméricas, PtBA e PnBA (temperatura ambiente).	200
Figura 4.18. Tempos de vida do processo de emissão de PL dos NCs QDs (2.25)-PtBA, QDs (2.25)-PnBA e QDs (3.17)-PtBA (da esquerda para a direita). A linha verde corresponde à função multiexponencial que melhor se ajusta aos valores experimentais.	202
Figura 4.19. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs registados no intervalo de temperaturas entre 20 e 65° C.	205
Figura 4.20. Variação da posição do máximo de emissão (esquerda) e da largura a meia altura (FWHM) (direita) no intervalo de temperaturas entre 20 a 65° C.	207
Figura 4.21. Dispositivo experimental para a caracterização das fibras ópticas funcionalizadas com QDs-Polímero.	210

Figura 4.22. Fotografias das fibras ópticas revestidas com nanocompósitos de QDs-PtBA, com dois tamanhos de NPs (QDs(2.25)-PtBA e QDs(3.17)-PtBA), sob excitação de luz UV (473 nm).

211

Figura 4.23. (a) Resposta espectral em função da temperatura de nanocompósitos QDs-PtBA imobilizados à superfície de uma fibra óptica. O aumento de Temperatura provoca uma diminuição (supressão) da intensidade de luminescência e o pico de emissão é ligeiramente desviado para menores energias. (b) A aplicação da relação $S = (A-B) / (A+B)$ permite obter uma resposta auto-referenciada com uma dependência linear com a temperatura.

211

Capítulo 6

Figura 6.1. Espectros ópticos de soluções de magnetite em diferentes monómeros.

241

Figura 6.2. Espectros ópticos de amostras sólidas dos NCps de magnetite em diferentes polímeros.

242

Figura 6.3. (imagem de cima) Intensidade de raios-X em função do ângulo e (imagem de baixo) Função de distribuição de distâncias, $\rho(r)$ para as NPs de Au e para os nanocompósitos Au-PtBA.

243

Índice de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1.1. Métodos mais comuns de síntese de QDs.	35
Tabela 1.2. Métodos mais comuns de síntese de NPs de Au e Ag.	38
Tabela 1.3. Métodos mais comuns de síntese de NPs com propriedades magnéticas.	40
Tabela 1.4. Resumo das principais aplicações biológicas de NPs.	61

Capítulo 2

Tabela 2.1. Teor de ouro determinado para os nanocompósitos.	111
---	-----

Capítulo 3

Tabela 3.1. Condições experimentais estudadas para a preparação de NCps por polimerização em miniemulsão convencional.	159
---	-----

Capítulo 4

Tabela 4.1. Condições experimentais e nomenclatura das NPs preparadas: Temperatura de injeção, valor do comprimento de onda do máximo da primeira banda de absorção e diâmetro dos núcleos de CdSe determinados pela relação empírica de Peng e colaboradores.	186
Tabela 4.2. Rendimento Quântico de emissão sob diferentes comprimentos de onda de excitação.	201
Tabela 4.3. Tempos de vida determinados para os diferentes nanocompósitos.	203
Tabela 4.4. Resultados do ajuste da posição do valor do máximo dos picos de emissão em função da temperatura, determinados pela relação de Varshni.	208

Capítulo 6

Tabela 6.1. Parâmetros determinados para o ajuste dos resultados experimentais (grau de confiança de 95%).	245
Tabela 6.2. Parâmetros determinados para o ajuste dos resultados experimentais (grau de confiança de 95%).	245

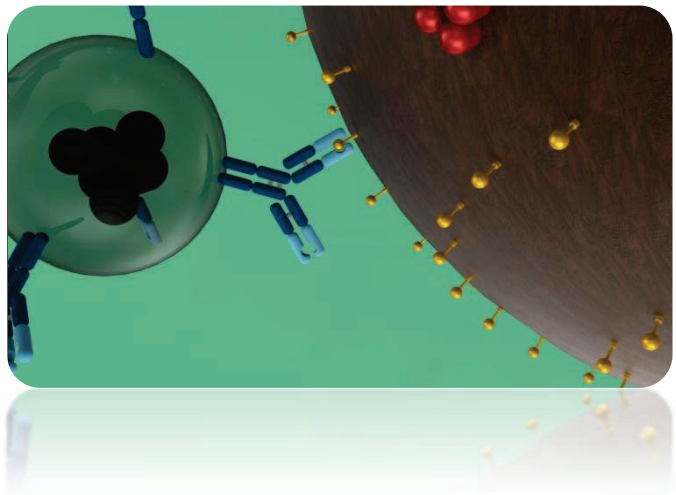
Abreviaturas e símbolos

Ac	Acetato
ACA	Ácido 1-adamantano carboxílico
acac	Acetilacetato
AFM	Microscopia de força atômica, (<i>Atomic Force Microscopy</i>)
AIBN	2-2'-Azobis(isobutironitrilo)
BE	Éter dibenzílico
CA	Álcool cetílico
Cup	Cupferronato
DCB	1,2-diclorobenzeno
DLS	Dispersão dinâmica de luz, (<i>Dynamic light scattering</i>)
DRX	Difracção de raios-X de pós, (<i>Powder X-ray Diffraction</i>)
EDAC	Hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
EDXS	Espectroscopia de dispersão de energia de raios X, (<i>Energy Dispersive X-ray Spectroscopy</i>)
E_g	hiato de energia de um material semiconductor macrocristalino
FTIR	Espectroscopia de infravermelhos com transformadas de Fourier, (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
H_c	coercibilidade magnética
HD	Hexadecano
HDA	Hexadecilamina
HDD	1,2-hexadecanodiol
HPA	Ácido hexilfosfónico
ICP	Emissão de plasma induzido
KPS	Persulfato de potássio
LAc	Ácido láurico
M_r	magnetização remanescente
M_s	magnetização de saturação
NPs	Nanopartículas
OAc	Ácido oleico
OAm	Oleilamina
ODE	Éter octadecílico
OE	Éter dioctílico
PE	Éter difenílico

PEG	Polietilenoglicol
PL	Fotoluminescência
PMMA	Polimetilmetacrilato
PnBA	Poli-acrilato de butilo
PS	Poli-estireno
PtBA	Poli-acrilato de <i>tert</i> butilo
PVP	Polivinilpirrolidona
QDs	Pontos quânticos (<i>Quantum Dots</i>)
r_B	raio excitônico de Bohr
SAC	Ácido esteárico
SAXS	Dispersão de Raios-X a baixos ângulos (<i>Small-angle X-ray Scattering</i>)
SDS	Dodecil sulfato de sódio (<i>sodium dodecyl sulfate</i>)
SEM	Microscopia electrónica de varrimento (<i>Scanning Electronic Microscopy</i>)
SERS	Difusão de Raman intensificada por superfície (<i>Surface Enhanced Raman Spectroscopy</i>)
SPR	frequência plasmónica de superfície (<i>Surface Plasmon Resonance</i>)
SPs	plasmões de superfície
STM	Microscopia de Efeito Túnel (<i>Scanning Tunneling Microscopy</i>)
TDPA	Ácido tetradecilfosfónico
TEM	Microscopia electrónica de transmissão (<i>Transmission Electron Microscopy</i>)
THF	Tetrahidrofurano (<i>Tetrahydrofuran</i>)
TMNO	Óxido de N-trimetilamina
(TMS)₂S	Sulfureto de bis(trimetilsilil)
TOA	Trioctilamina
TOAB	Brometo de tetraoctilamonio (<i>tetraoctylammonium bromide</i>)
TOP	Trioctilfosfina
TOPO	Óxido de trioctilfosfina
TOPSe	Selenieto de trioctilfosfina
TRIS	Cloridrato de tris-(hidroximetil)-aminometano
UV	Ultravioleta
UV/vis	Espectroscopia de absorção no ultravioleta/ visível
XPS	Espectroscopia fotoelectrónica de raios-X (<i>X-ray Photoelectron Spectroscopy</i>)

Capítulo 1

Introdução



Índice

1.1.	Introdução geral	3
	A “revolução nano”	3
	Nanociência	7
	A promessa “nano” em biotecnologia: a nanobiotecnologia.	7
1.2.	Propriedades de NPs em função do tamanho.....	8
	Nanopartículas semicondutoras - Pontos quânticos	11
	Nanopartículas metálicas	18
	Nanopartículas magnéticas	23
1.3.	Preparação de NPs em soluções coloidais – generalidades.....	26
	Síntese de NPs semicondutoras – QDs	32
	Síntese de nanopartículas metálicas.....	36
	Síntese de nanopartículas magnéticas.....	39
1.4.	Modificação superficial de NPs	41
1.5.	Métodos de bioconjugação e aplicações biológicas de NPs	52
	Aplicações biológicas de NPs.....	59
1.6.	Enquadramento e objectivos deste trabalho	72
1.7.	Referências	74

“A biological system can be exceedingly small. Many of the cells are very tiny, but they are very active; they manufacture various substances; they walk around; they wiggle; and they do all kinds of marvelous things---all on a very small scale. Also, they store information. Consider the possibility that we too can make a thing very small which does what we want---that we can manufacture an object that maneuvers at that level!” da palestra de Richard Feynman “There’s plenty of room at the bottom”. Ninguém melhor do que Feynman para prever as potencialidades da Nanotecnologia em aplicações biológicas. Os sistemas biológicos apresentam uma organização sistemática de estruturas e processos a uma escala nanométrica identificada por Feynman como exemplar para o desenvolvimento de novas nanoestruturas de dimensões comparáveis. Neste capítulo introdutório, apresenta-se uma revisão das propriedades de nanopartículas e nanoestruturas, métodos de preparação e de modificação superficial assim como a sua aplicação em medicina e biologia.

1.1. Introdução geral

A “revolução nano”

O interesse nas áreas de nanotecnologia e nanociência tem crescido nos últimos anos, prevendo-se ser um dos mercados mais atractivos e de mais rápido crescimento da história. O total de receitas mundiais para a nanotecnologia foi de cerca de 9.000 M€ em 2009 e é previsto um aumento até mais de 20.000 M€ até 2015, a uma taxa de crescimento anual de 11.1%, sendo o segmento de mercado mais significativo o dos nanomateriais, com cerca de 77% [1]. A União Europeia, no sétimo programa-quadro para a investigação científica e desenvolvimento tecnológico (FP7 - *Seventh Framework Programme for Research and Technological Development*) para o período de 2007-2013, prevê um investimento de cerca de 3.500 M€, valor que quase duplica o investimento do programa-quadro anterior (FP6), cujo orçamento para esta área foi de cerca de 1.700 M€. Em Portugal, a nanotecnologia é uma das áreas prioritárias de intervenção, do que resultou a inauguração do laboratório ibérico de nanotecnologia (INL) em Braga em 2008.

Esta “revolução nano” já comparada por muitos especialistas à revolução industrial, traz consigo a promessa de novos e melhores produtos, em áreas estratégicas, como são a energia, medicina, informação, segurança, ambiente e indústria.

Um momento na história que tem sido apontado inúmeras vezes como o início desta “revolução nano”, é sem dúvida a palestra profética de Richard Feynman na reunião anual da Sociedade Americana de Física no Instituto de Tecnologia da Califórnia (Caltech) em 1959 [2]. Nesta palestra, intitulada “*There's Plenty of Room at the Bottom*”, Feynman discute a possibilidade de manipular a matéria na escala atômica e molecular e as consequências que poderiam daí surgir para o armazenamento de informação e síntese química, entre outras aplicações. As previsões de Feynman incluíram a miniaturização de dispositivos de armazenamento de informação, o desenvolvimento de microscópios mais poderosos em termos de resolução, entre outros, muito antes de estes avanços serem possíveis. Estas previsões não foram, no entanto, levadas a sério pelos contemporâneos de Feynman e o tema da nanotecnologia foi popularizado em 1981 por Eric Drexler com um artigo intitulado: “*Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation*” [3] e mais tarde em 1986 com a sua obra: “*Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology*” [4, 5].

Embora Feynman e Drexler tenham tido certamente um papel importante na popularização do tema nanotecnologia, a “revolução nano” não foi directamente influenciada pelas suas ideias. Esta revolução foi o resultado de um lento desenvolvimento tecnológico, para o qual contribuíram vários avanços tecnológicos desde o início do século vinte, dos quais seleccionamos alguns, nomeadamente: a descoberta e aperfeiçoamento dos microscópios electrónicos (de transmissão, TEM e de varrimento, SEM); o desenvolvimento do microscópio de Efeito Túnel (STM) e de força atômica (AFM), que forneceram o suporte para a caracterização das novas nanoestruturas; A primeira manipulação da matéria na escala atômica e passos importantes na síntese de nanomateriais, nomeadamente materiais semicondutores que abriram as portas para o estudo dos efeitos quânticos de dimensão.

O desenvolvimento do microscópio electrónico de transmissão (TEM) deve-se ao trabalho do cientista alemão Ernst Ruska. O limite de observação dos microscópios ópticos convencionais, cuja resolução é limitada pela natureza ondulatória da luz, (o limite de resolução definido pelo critério de Rayleigh é de cerca de 240 nm) há muito tempo tinha sido atingido. Ruska foi pioneiro na utilização de um feixe de electrões para substituir a radiação visível em microscopia e na utilização de campos magnéticos para substituir os sistemas de focagem, criando o precursor do microscópio electrónico de transmissão em 1931 [6]. O trabalho de Ruska foi reconhecido em 1986 quando foi galardoado com o prémio Nobel da física, prémio esse que partilhou com os inventores do STM.

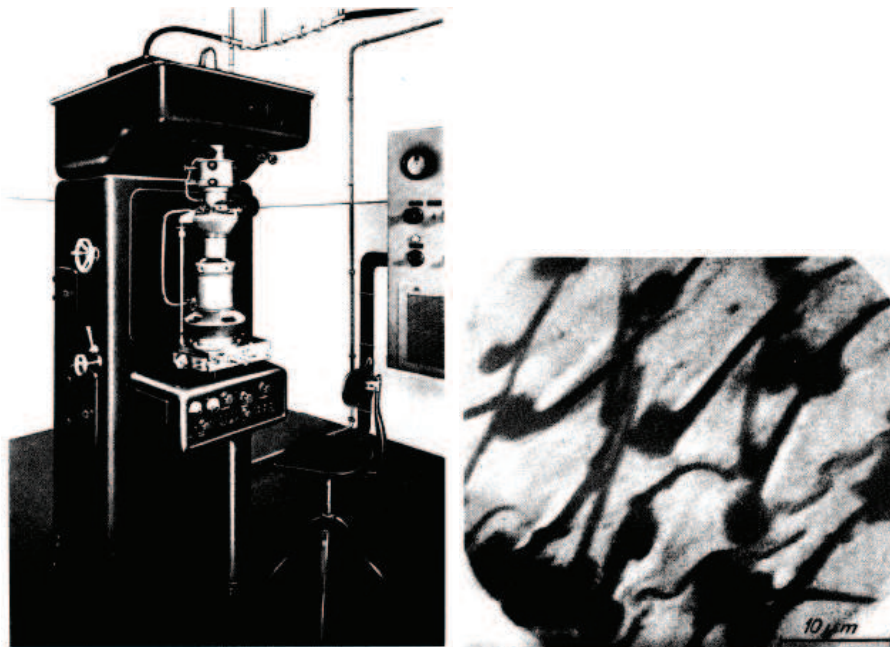


Figura 1.1. Na figura da esquerda, o primeiro microscópio electrónico de transmissão produzido em série pela Siemens em 1939; à direita: Uma das primeiras fotografias de microscopia electrónica de transmissão: A superfície da asa de uma mosca doméstica [6].

A invenção do Microscópio de Efeito Túnel (STM), cuja patente data de 1980, deu a Gerd Binnig e Heinrich Rohrer o prémio Nobel da física em 1986. No STM é possível formar uma imagem de átomos individuais e das ligações entre eles. Uma diferença de potencial é aplicada entre a superfície da amostra e uma ponta de prova bastante fina, que no limite será terminada num só átomo. Quando se aproxima da superfície a ponta de prova de uma distância na ordem do diâmetro atómico, cria-se uma corrente “tipo túnel” entre a ponta e a superfície. A ponta é então deslocada ao longo da superfície de forma a varrer

uma determinada área, mantendo a distância à superfície constante, o que é conseguido mantendo a corrente constante entre a ponta e a superfície. O ajuste da posição vertical da ponta produz um mapa de contorno da superfície, que é tratado por computador para criar a imagem dos átomos (Figura 1.2) [7].

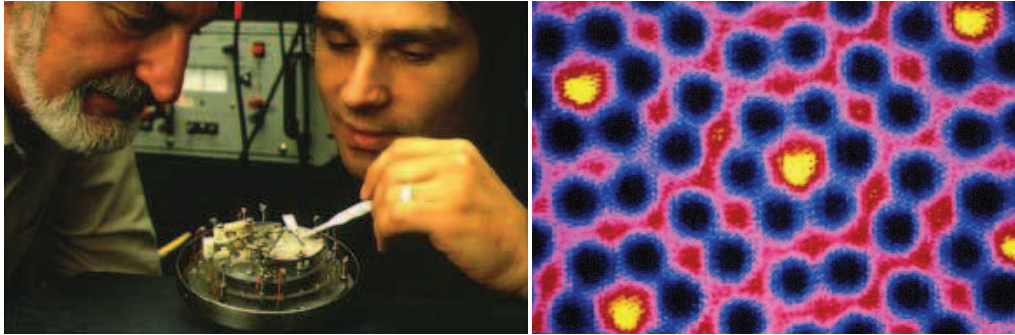


Figura 1.2. (a) Heinrich Rohrer e Gerd K. Binnig, cientistas do laboratório de pesquisa da IBM em Zurich, foram galardoados com o prémio Nobel da física em 1986, pelo seu trabalho no desenvolvimento do microscópio de efeito túnel (STM). (b) Uma das primeiras imagens obtidas por STM mostra átomos superficiais de silício com um aumento de 20 milhões de vezes [7].

A manipulação de átomos a partir de uma ferramenta criada pelo homem foi demonstrada pela primeira vez em Abril de 1990. Utilizando um STM, os cientistas da IBM manipularam 35 átomos de xénon, um átomo de cada vez de forma a “escrever” as iniciais I B M (Figura 1.3) [8].

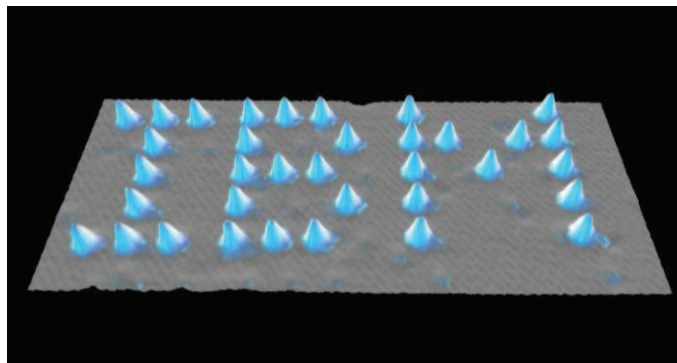


Figura 1.3. Cientistas no IBM descobriram como posicionar átomos individuais numa superfície metálica utilizando um microscópio de efeito túnel (STM). Esta técnica foi demonstrada em Abril de 1990 e os cientistas escreveram pela primeira vez as iniciais I-B-M, um átomo de cada vez [7, 8].

No início dos anos 80 do século passado, Louis Brus nos laboratórios Bell (Estados Unidos) [9], Alexander Efros e Alexei I. Ekimov (na antiga União Soviética) [10-12], enquanto estudavam a preparação de partículas de CdS (sulfureto de cádmio) em solução [13] e de CuCl (cloreto de cobre) em matrizes de vidro [10], respectivamente, observaram que

diferentes preparações do mesmo material semicondutor apresentavam espectros ópticos distintos. Este resultado evidenciava que as propriedades ópticas de nanocristais semicondutores eram não só diferentes dos materiais macrocristalinos mas também fortemente dependentes do tamanho de partícula. Esta descoberta é um exemplo da capacidade de modificar quimicamente as propriedades intrínsecas de um material manipulando o tamanho médio das partículas que o constituem.

Estas descobertas, entre outras, ajudaram a estabelecer a nanotecnologia como revolução tecnológica. Mas não podemos esquecer que nem tudo o que é “nano” é novo: muitas das tecnologias existentes utilizam processos a uma escala nanométrica; a catálise e a fotografia são exemplos bem conhecidos. A nossa capacidade de sintetizar, organizar e manipular certos materiais, a uma escala “nano”, é no entanto de origem recente [14].

Nanociência

A miniaturização não é o único atractivo deste novo “*território nano*”. De facto os primeiros investigadores encontraram um “*fabuloso mundo novo*”, onde a transição de tamanho para uma escala nanométrica, que é característica de objectos com dimensões intermédias entre as moléculas e as partículas submicrométricas (tipicamente entre 1-100 nm), leva ao aparecimento de propriedades singulares, diferentes das propriedades das moléculas e sólidos típicos – isto originou o aparecimento de um novo campo de conhecimento, denominado de “*nanociência*”. A interdisciplinaridade deste novo campo é muito importante, pois engloba a interacção de conceitos da Química, Física e Biologia, almejando o desenvolvimento de novos conhecimentos fundamentais [15].

A promessa “nano” em biotecnologia: a nanobiotecnologia.

“A biological system can be exceedingly small. Many of the cells are very tiny, but they are very active; they manufacture various substances; they walk around; they wiggle; and they do all kinds of marvelous things---all on a very small scale. Also, they store information. Consider the possibility that we too can make a thing very small which does what we want---that we can manufacture an object that maneuvers at that level!” da palestra de Richard Feynman “*There’s plenty of room at the bottom*”. Ninguém melhor do

que Feynman para prever as potencialidades da Nanotecnologia em aplicações biológicas. Os sistemas biológicos apresentam uma organização sistemática de estruturas e processos a uma escala nanométrica identificada por Feynman como exemplar para o desenvolvimento de novas nanoestruturas de dimensões comparáveis.

O progresso na criação destas nanoestruturas impulsionou o aparecimento de um vasto leque de novos materiais com um potencial impacto em medicina. Na Figura 1.4 são apresentados alguns exemplos de estruturas de dimensões submicrométricas de origem natural e são comparadas com alguns materiais criados pelo homem na mesma escala. O desenvolvimento de uma tecnologia a uma escala capaz de interagir com as estruturas biológicas guarda a promessa do desenvolvimento de novas técnicas e dispositivos de diagnóstico e tratamento. Os avanços tecnológicos nesta área da nanotecnologia levaram ao aparecimento de um novo ramo de conhecimento: a nanobiotecnologia [16].

1.2. Propriedades de NPs em função do tamanho

Uma consequência óbvia da diminuição do tamanho dos materiais é o aumento da área superficial daí resultante. Por exemplo, a área superficial de um cubo de 1 cm de lado é de 6 cm². Se reduzirmos as dimensões do cubo em uma ordem de grandeza, isto é, de forma a que cada cubo possua 1 mm de lado, teremos agora 1000 cubos cuja área superficial conjunta é de 60 cm². Se reduzirmos as dimensões do cubo para uma escala nanométrica, isto é, cada cubo possuindo 1 nm de lado, teremos 10²¹ cubos e a área superficial daí resultante é agora de 60.000.000 cm²! Por outras palavras, um centímetro cúbico de nanopartículas (NPs) cúbicas com 1 nm de lado é suficiente para cobrir 2/3 da área de um campo de futebol! (Figura 1.5) [17] Este aumento significativo da área superficial tem uma influência colossal na reactividade química das NPs, o que é vantajoso para diversas aplicações como por exemplo, em catálise.

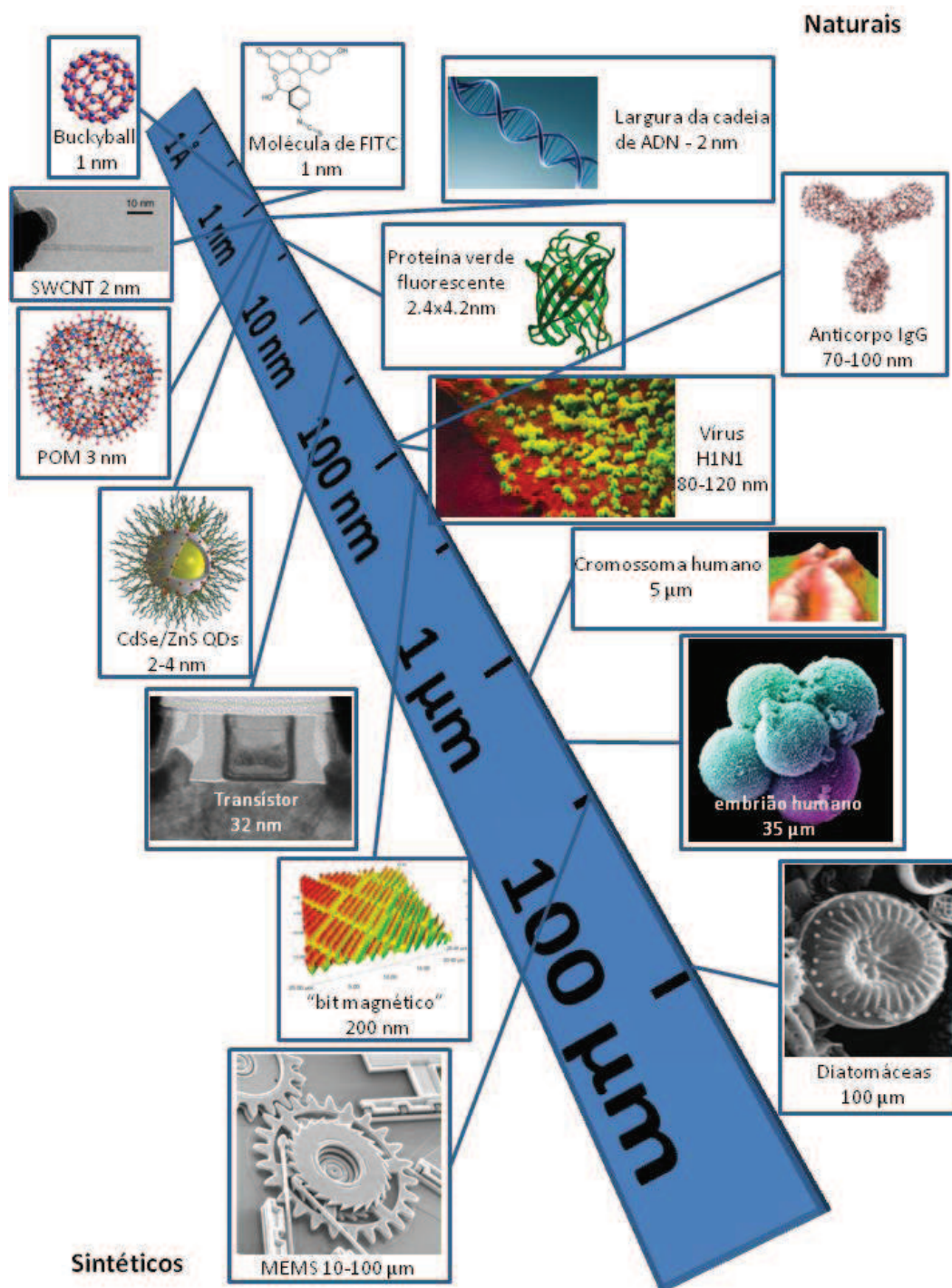


Figura 1.4. A escala "Nano": Materiais da natureza vs Materiais sintéticos [18-29].

Associado à diminuição de tamanho de partícula está o aumento significativo do número de átomos superficiais. Por exemplo, numa NP de ferro com 30 nm de diâmetro, apenas 5 % dos átomos se encontram à superfície. No entanto, se considerarmos uma NP com

10 nm, já 20 % dos átomos encontram-se à superfície e se consideramos uma NP com 3 nm, metade dos átomos do nanocristal são superficiais [30].

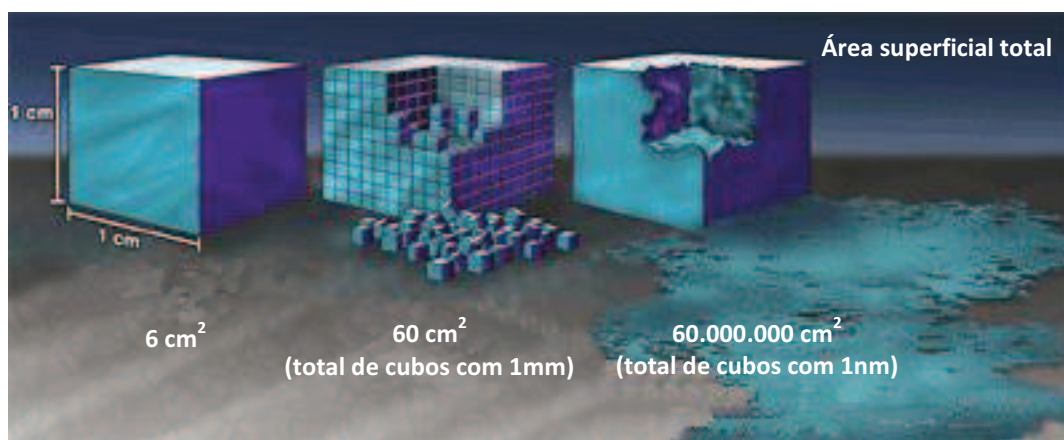


Figura 1.5. Evolução da área superficial com a diminuição das dimensões de partícula [17].

A diminuição do tamanho das NPs tem consequências nas propriedades dos materiais, como por exemplo no ponto de fusão (Figura 1.6). Este exemplo demonstra que a uma escala nanométrica até uma propriedade termodinâmica da matéria, considerada constante, varia em função do tamanho [31].

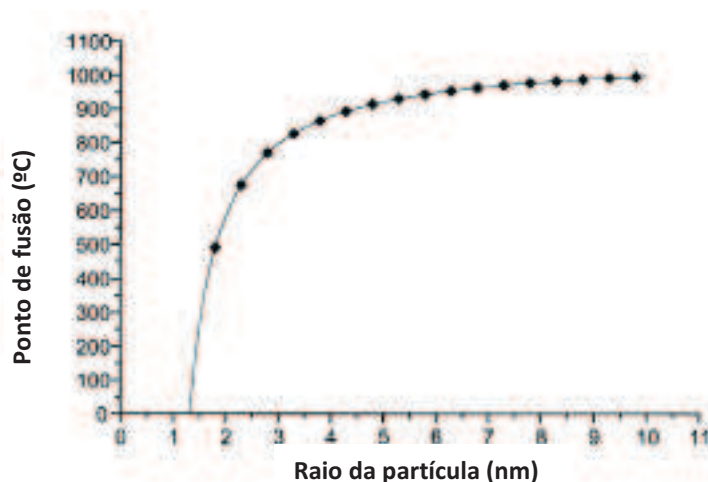


Figura 1.6. Variação do ponto de fusão de NPs de ouro em função do tamanho [31].

Podem ser observados outros efeitos a uma escala nanométrica, com efeitos por exemplo, nas propriedades ópticas de materiais semicondutores, como foi apresentado nas secções anteriores. Na próxima secção serão discutidos os efeitos dimensionais nas propriedades ópticas de NPs metálicas, tipicamente ouro e prata, de NPs semicondutoras e nas propriedades magnéticas de NPs.

Nanopartículas semicondutoras - Pontos quânticos

A descoberta dos efeitos quânticos de dimensão em NPs de semicondutores, já aqui apontada como um dos marcos da “revolução nano”, resultou do trabalho quase simultâneo de Louis Brus nos Estados Unidos [9] e de Alexander Efros e Alexei I. Ekimov na antiga União Soviética [10-12]. Estes investigadores observaram que as propriedades ópticas de materiais semicondutores eram fortemente dependentes do tamanho das partículas e posteriormente estabeleceram a base teórica para a compreensão dos efeitos quânticos de dimensão.

Na Figura 1.7 está representado, de forma simplificada, a estrutura de níveis de energia para um material semicondutor. De acordo com as regras da mecânica quântica, as orbitais atómicas apresentam níveis discretos de energia que dependem do momento angular das orbitais. Numa molécula a ligação entre vários átomos ocorre através da partilha de electrões em novas orbitais partilhadas, designadas de orbitais moleculares (OM). Estas OM podem ser ligantes (σ) e anti-ligantes (σ^*), encontrando-se parcialmente ocupadas, contribuindo assim para a estabilidade da molécula formada. Seguindo o mesmo princípio, é possível prever a estrutura electrónica de sistemas mais complexos como moléculas mais complexas e agregados atómicos.

O aumento de complexidade de um sistema poliatómico, como no caso de um material macrocristalino, torna impraticável o cálculo da estrutura electrónica em termos de combinação das orbitais atómicas. No entanto, algumas simplificações poderão ser feitas se o sistema em estudo é um sistema periódico como um cristal infinito. A estrutura cristalina de sólidos pode ser descrita em termos de combinações periódicas de orbitais atómicas. Neste modelo, são assumidas as operações de simetria no cristal assim como é desprezada a contribuição da superfície do cristal, assumindo as condições fronteira de um sistema periódico, isto é, um sólido infinito. É assim possível descrever as funções de onda dos electrões como ondas planares que se propagam ao longo do sólido. Desta forma, por oposição ao caso dos átomos e moléculas, a estrutura energética do sólido é representada por níveis discretos de energia que formam praticamente um contínuo e, neste caso, fala-se em bandas de energia.

Em cristais de dimensões nanométricas, designados de nanocristais, os pressupostos de simetria e de tamanho infinito do cristal deixam de ser válidos e estes sistemas não podem ser descritos pelo mesmo modelo usado para os materiais macrocristalinos. Como pode ser observado na Figura 1.7, os níveis de energia de um nanocristal são discretos, mas a sua densidade de estados é maior, sendo menor o seu espaçamento comparado com os níveis correspondentes de um átomo ou de um pequeno agregado atómico. Devido a apresentarem um sistema de níveis discretos de energia os nanocristais são designados de “pontos quânticos” ou “*quantum dots*” (QDs).

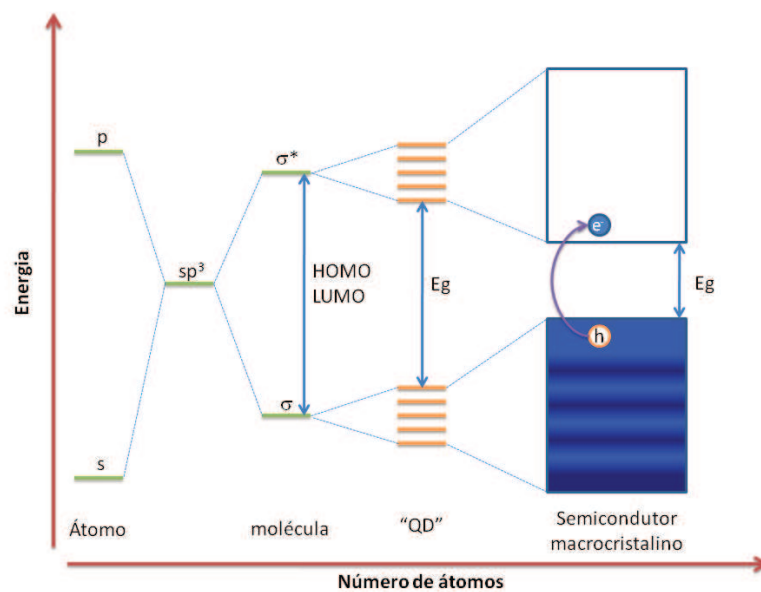


Figura 1.7. Os níveis eletrônicos dependem do número de átomos combinados. Ao associar mais átomos na estrutura, os níveis de energia discretos das orbitais atômicas fundem-se em bandas de energia (na figura representado para um material semiconductor). Desta forma os QDs são materiais intermédios entre pequenas moléculas e o material cristalino macroscópico [32].

Podemos então imaginar que a estrutura eletrônica de um nanocristal é algo intermédio entre os níveis discretos das moléculas e a estrutura de bandas dos sólidos macrocristalinos.

Para o caso dos nanocristais, os conceitos de bandas de energia e hiato óptico utilizados para caracterizar um material semiconductor macrocristalino são ainda válidos. As orbitais ocupadas de maior energia, constituem a banda de valência do nanocristal, enquanto os níveis desocupados de menor energia constituem a banda de condução. O hiato

energético entre as bandas de valência e de condução resulta no hiato óptico do nanocristal [32].

Quando num material semiconductor se faz incidir um fotão de energia capaz de promover um electrão da banda de valência para a banda de condução, forma-se um par electrão-lacuna na rede cristalina. Este par electrão-lacuna é designado de excitão. A separação física entre o electrão e a lacuna é o raio excitónico de Bohr (r_B) e é característico do material semiconductor. Num material semiconductor macrocristalino, r_B é significativamente inferior ao tamanho total do cristal, daí resulta que o excitão é livre de migrar ao longo da estrutura. No entanto, quando as dimensões do cristal são reduzidas, r_B é da mesma ordem de magnitude do raio do cristal, do que resulta um confinamento da função de onda do excitão às dimensões físicas da partícula devido à barreira de potencial da superfície [14, 33], que origina um aumento da diferença energética entre os níveis de valência e os níveis de condução.

No início dos anos 80 do século passado, Alexander Efros [12] conseguiu deduzir a dependência do hiato óptico para semicondutores em função do tamanho, quando este é menor do que o raio do excitão de Bohr (Equação 1.1). O hiato óptico E_n aumenta relativamente ao valor do material macrocristalino (E_g) de um termo de confinamento energético cuja dependência com o raio do cristal é de $1/R^2$:

$$E_n = E_g + \frac{h^2 \pi^2}{2\mu R^2} \quad (1.1)$$

onde E_g é o valor do hiato de energia para o material semiconductor macrocristalino; h é a constante de Planck; R é o raio da partícula; e μ é a massa reduzida do excitão dada por: $\mu = m_e^* \times m_h^* / (m_e^* + m_h^*)$ em que m_e^* e m_h^* são as massas efectivas do electrão e lacuna, respectivamente [34].

Quase simultaneamente ao trabalho de Efros, Louis Brus [9] desenvolveu um modelo que para além do termo relativo ao confinamento quântico, incluía um termo relativo à interacção de Coulomb (Equação 1.2):

$$\Delta E = \frac{h^2\pi^2}{2\mu R^2} - \frac{1.8e^2}{\epsilon R} \quad (1.2)$$

em que e é a carga elementar e ϵ é a constante dielétrica do semiconductor macrocristalino. Num semiconductor macrocristalino a interacção electrostática (atractiva) de tipo Coulomb entre o par de transportadores de carga (electrão-lacuna) que constituem o excitão pode ser negligenciada. No entanto, num nanocristal esta atracção não pode ser menosprezada visto o excitão encontrar-se confinado espacialmente, dadas as reduzidas dimensões da partícula.

A equação 1.2 embora resulte de um modelo bastante simplificado permite obter um valor aproximado do comportamento quântico de nanopartículas semicondutoras. Esta equação é particularmente útil para obter uma estimativa de tamanho médio de partículas esferóides pela simples análise dos espectros de absorção óptica. Para materiais semicondutores com morfologias mais complexas, como “nanoplaquetas” e “nanofios”, o mesmo tipo de raciocínio pode ser tomado considerando que o confinamento ocorre em apenas uma (1D) ou duas dimensões (2D), respectivamente, e introduzindo as respectivas componentes espaciais na equação 1.2.

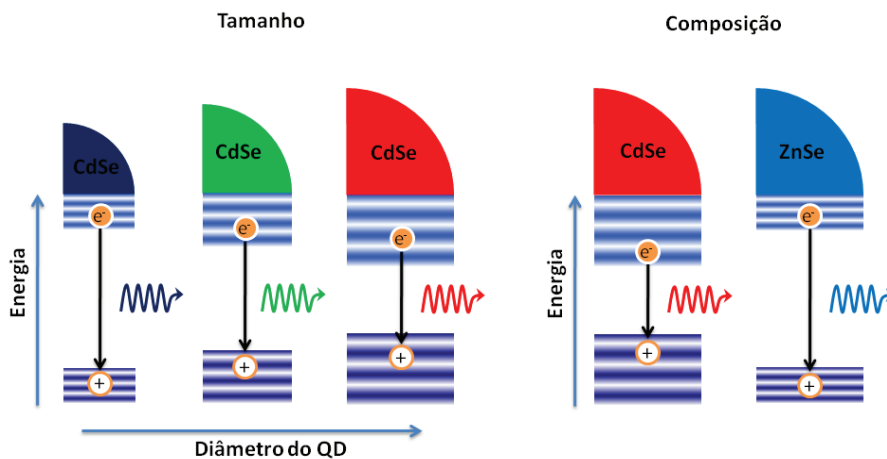


Figura 1.8. Mecanismos de ajuste da energia do hiato óptico em QDs.

A consequência mais importante deste fenómeno é a possibilidade de ajustar as cores (quer por processos de absorção, quer por processos de emissão de luz por fotoluminescência) de partículas semicondutoras, não só através da escolha da sua composição mas também manipulando o seu tamanho (Figura 1.8). É possível assim obter

uma variada paleta de cores, desde o ultravioleta até ao infravermelho, passando pela região do visível e do infravermelho próximo (Figura 1.9).

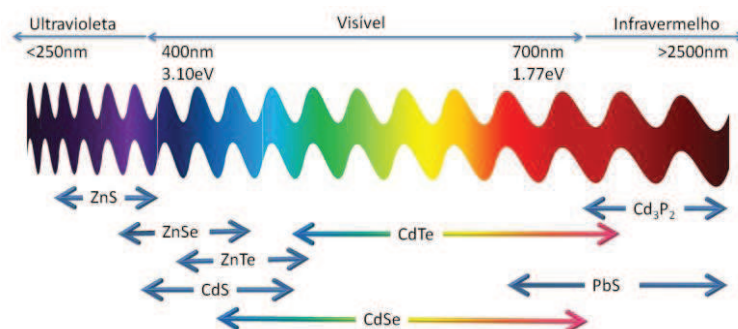


Figura 1.9. Gama de cores (de emissão) que podem ser obtidas utilizando QDs de diferente composição e/ou tamanho.

Um material que é considerado exemplar deste comportamento é o CdSe (selenieto de cádmio). O CdSe macrocristalino apresenta uma cor castanha escura, enquanto para NPs de CdSe com cerca de 2 nm até pouco mais de 8 nm de diâmetro, o confinamento quântico resulta em cores que vão do amarelo ao vermelho, sob luz ambiente e do azul ao vermelho, sob luz UV, dependendo do tamanho de partícula (Figura 1.10) [32, 34].

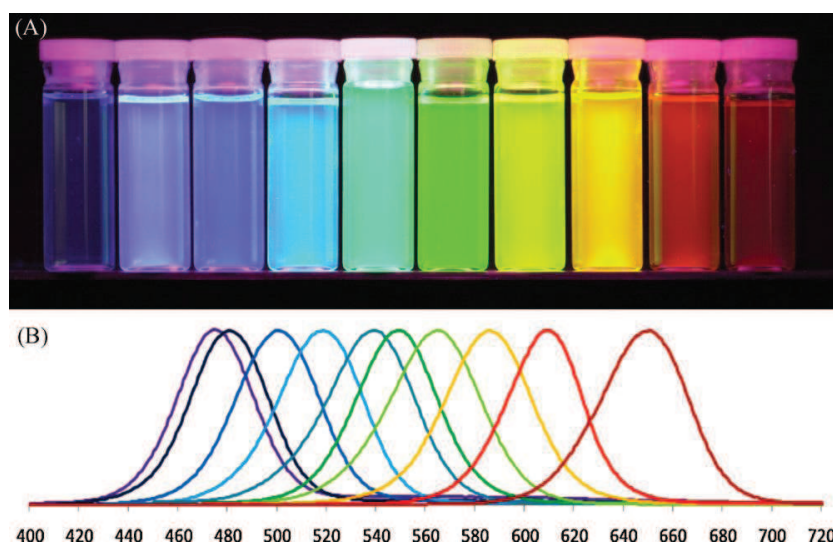


Figura 1.10. A “cor” da emissão dos QDs de CdSe pode ser afinada de forma a varrer o espectro do visível. (A) apresentam-se soluções de QDs de CdSe (revestidos com ZnS) com diferentes tamanhos (de cerca de 2 a pouco mais de 8nm) e (B) os respectivos espectros de fotoluminescência [35-37].

A dependência das propriedades ópticas com o tamanho resulta da estrutura interna do nanocristal, no entanto, à medida que as dimensões do cristal vão sendo progressivamente reduzidas, o número de átomos (e defeitos) à superfície aumenta, o que influencia as propriedades ópticas.

A emissão por fotoluminescência é fortemente afectada por fenómenos que ocorrem à superfície dos QDs (Figura 1.11). Os átomos na superfície de uma face do cristal encontram-se incompletamente ligados ao cristal, terminando a periodicidade da estrutura do cristal, deixando ligações suspensas (*“dangling orbitals”*) orientadas para o exterior do cristal. Estas orbitais podem elas mesmo formar uma estrutura de bandas semelhante à do cristal semiconductor [38, 39]. Por outro lado, a existência de defeitos à superfície, contribuem também para a criação de novos níveis de energia. Se estes estados de energia se encontram no hiato óptico do semiconductor, poderão sequestrar os transportadores de carga, reduzindo a probabilidade de recombinação excitónica e aumentando a probabilidade da ocorrência de eventos não radiativos.

Por exemplo, as nanopartículas coloidais de CdSe podem apresentar duas bandas de emissão de fluorescência, uma correspondente ao hiato óptico e uma de menor energia que resulta da recombinação das bandas dos estados de superfície (Figura 1.11).

A existência/extensão destes centros pode ser eliminada, ou minimizada, pelo recurso a moléculas tensioactivas que estabelecem ligações com esses sítios à superfície, sendo tal processo usualmente designado como passivação (*“passivation”*) ou protecção terminal (*“end-capping”*) das nanopartículas.

No caso de suspensões coloidais de QDs, moléculas orgânicas de óxidos de fosfinas (Óxido de trioctilfosfina, TOPO) e aminas primárias de cadeia longa (por exemplo, Hexadecilamina, HDA), têm sido utilizadas para prevenir fenómenos de agregação entre as partículas (a utilização destas moléculas será discutida na secção dedicada à síntese de QDs). Estas moléculas coordenam à superfície do nanocristal através de ligações dadoras metal-ligando, passivando as ligações suspensas e minimizando a formação de estados de superfície [40].

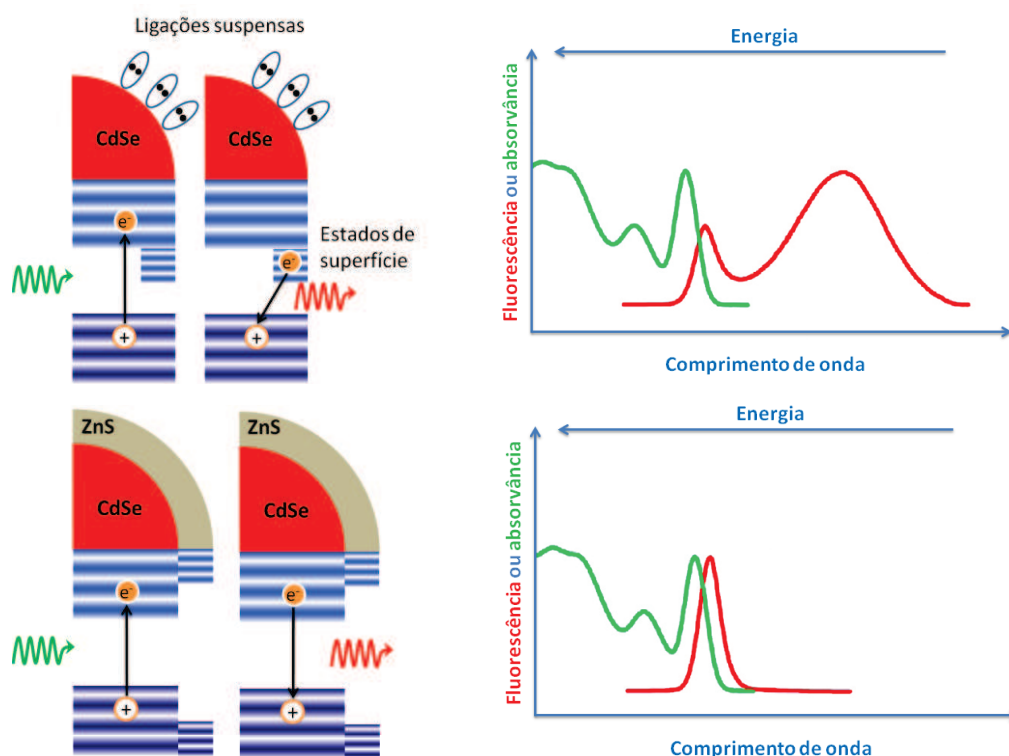


Figura 1.11. As propriedades ópticas de QDs são influenciadas pelos estados de superfície. (Adaptado da referência [40]).

Para aplicações em que é necessário maximizar as propriedades de fotoluminescência, a passivação da superfície com moléculas orgânicas não é suficiente para eliminar os estados de superfície e torna-se necessário revestir o material semiconductor com uma coroa de um material inorgânico isolante. Esta coroa inorgânica não só passiva as ligações suspensas como cria um poço de energia potencial, concentrando os transportadores de carga no núcleo, longe da superfície (Figura 1.11) [41-43]. Desta forma, o efeito dos estados de superfície na eficiência de emissão terá um impacto reduzido.

Na forma coloidal é possível revestir QDs com coroas de materiais de maior hiato de energia, como por exemplo o ZnS (sulfureto de zinco) ou CdS. Estes materiais não só isolam o núcleo como fornecem uma protecção superior contra oxidação, já que o ião S^{2-} tem um potencial de oxidação muito menor do que o Se^{2-} ($E_{red}^0(S_{(s)}/S^{2-}) = -0.48\text{ V}$, $E_{red}^0(Se_{(s)}/Se^{2-}) = -0.92\text{ V}$) [44], reduzindo assim a degradação foto-oxidativa da superfície.

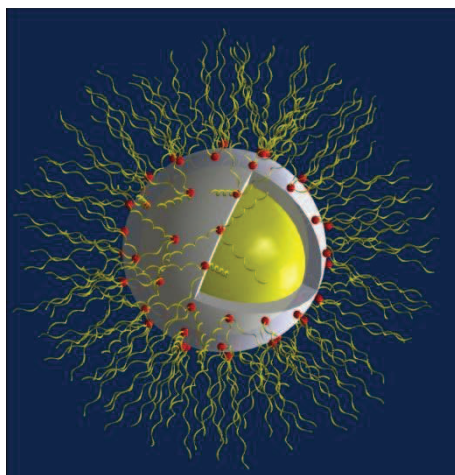


Figura 1.12. Anatomia de um “ponto quântico” (QD).

Na Figura 1.12 podemos ver a anatomia de um QD, que é composto por um núcleo do material semiconductor, revestido por uma camada de um semiconductor de maior hiato óptico e por moléculas tensioactivas que passivam a superfície e garantem estabilidade em solventes orgânicos, por exemplo, TOPO, OAm (oleilamina), TOA (trioctilamina), OAc (ácido oléico), entre outros.

Nanopartículas metálicas

A utilização de partículas de ouro na forma coloidal pode ser seguida até ao século V A. C. no Egito e China e desde então têm sido vários os exemplos da sua utilização com motivações decorativas ou medicinais [45]. Um dos mais famosos exemplos do uso de ouro coloidal para fins decorativos é o cálice de Lycurgus (*“the lycurgus cup”*) (Figura 1.13). Este copo datado do período romano (século IV, D.C., produzido provavelmente em Roma) é um exemplar único de um tipo especial de vidro, conhecido como dicróico, isto é, cuja cor varia dependendo do ângulo de incidência da luz sobre a sua superfície. A cor verde resulta da reflexão da luz pelo copo, enquanto a luz ao ser transmitida através do vidro apresenta uma cor vermelha. Este efeito pode ser observado quando se acende, por exemplo uma lâmpada no interior do copo (Figura 1.13, à direita). Este fenómeno é atribuído à existência de partículas coloidais de metais, nomeadamente de ouro e prata, dispersas no vidro.



Figura 1.13. Fotografias do famoso cálice de lycurgus ("*lycurgus cup*") em exposição no museu britânico em Londres. O vidro apresenta uma cor verde, resultante da luz reflectida (foto da esquerda), mas quando iluminado a partir do interior apresenta uma cor vermelha resultante da luz transmitida (foto da direita).

Apesar da utilização de ouro para fins medicinais ter sido documentada durante toda a antiguidade até à idade média, o alquimista Paracelsus (1493-1541) é o primeiro a descrever o uso de soluções coloidais de ouro para fins medicinais. A sua solução designada de *Aurum Potable* era utilizada para a cura de variados males físicos e mentais.

Apesar da longa história de utilização humana de NPs de ouro e prata, a primeira tentativa de explicar cientificamente a cor de soluções coloidais foi reportada apenas em 1857 por Michael Faraday [46]. Faraday estava interessado na interacção da luz com partículas metálicas de reduzidas dimensões (quando comparadas com o comprimento de onda da luz visível) e estava intrigado com a cor de soluções coloidais de metais em particular a cor rubi dos coloides de ouro [47]. A síntese típica de Faraday tratava-se de uma solução aquosa de sal de ouro (em geral, NaAuCl_4) que era reduzido com fósforo numa solução de dissulfeto de carbono (CS_2) num sistema de duas fases. Os coloides de ouro de Faraday eram bastante estáveis e pelo menos um sobreviveu até à segunda guerra mundial, quando foi acidentalmente destruído. Uma réplica de uma das soluções coloidais de ouro de Faraday está representada na Figura 1.14 [47, 48].

Apenas munido de conhecimento empírico, Faraday sugeriu que a cor rubi da solução resulta do tamanho reduzido das partículas metálicas na solução que não podiam ser observadas pelos microscópios do seu tempo [47, 49]. Somente quase 100 anos depois, Turkevich [50] utilizou um microscópio electrónico para revelar que os coloides de cor

rubi, preparados pelos métodos desenvolvidos por Faraday consistiam em nanopartículas de ouro com tamanhos médios de 6 ± 2 nm [48-51].

Desde os trabalhos pioneiros de Michael Faraday com soluções coloidais de ouro é sabido que o ouro apresenta propriedades ópticas dependentes do tamanho de partícula [46]. Estudos posteriores de G. Mie permitiram a resolução das equações de Maxwell para a absorção e dispersão (*scattering*) da radiação electromagnética por esferas de pequenas dimensões e constituem uma base teórica sólida para o estudo da interacção destas pequenas partículas [52].



Figura 1.14. Solução coloidal de ouro de cor rubi de Faraday [47].

A propagação de ondas electromagnéticas, ao longo da interface entre um metal e o meio dieléctrico circundante cria um campo electromagnético na direcção paralela à interface metálica acoplado à oscilação dos electrões da banda de condução, também conhecidos por plasmões de superfície (SPs). Estes SPs caracterizam-se por um forte aumento do campo na interface, enquanto o vector de campo eléctrico decai exponencialmente ao afastar-se da superfície, o que significa que a profundidade de penetração no metal é pequena (na ordem de nm).

Quando as dimensões do metal são reduzidas, ou seja, para partículas metálicas com um diâmetro muito inferior ao comprimento de onda da radiação incidente $d \ll \lambda$, os

electrões da banda de condução, movem-se em fase com a radiação de comprimento de onda λ , originando uma organização das cargas de polarização na superfície da partícula. Estas cargas actuam como uma força compensadora, permitindo as condições de ressonância para determinada frequência, isto é, a frequência plasmónica de superfície (SPR; *Surface Plasmon Resonance*) [53].

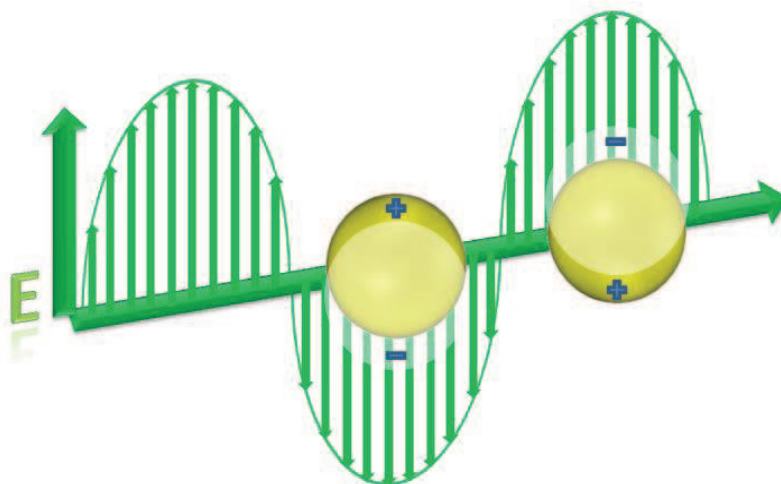


Figura 1.15. Sob o efeito do campo eléctrico incidente, a nuvem electrónica das NPs metálicas vai oscilar criando um dipolo eléctrico.

Como estas ressonâncias são originadas pelas propriedades dieléctricas particulares dos metais, estas podem ser facilmente modeladas utilizando as equações de Mie para a absorção e dispersão da radiação electromagnética por esferas pequenas.

Os elementos de alguns metais, como por exemplo, Cobre, Ouro e Prata, são particularmente interessantes neste contexto: por um lado formam coloides estáveis ao ar e por outro lado, a sua frequência de plasma situa-se na parte visível do espectro electromagnético [54].

Para partículas alongadas (elipsóides e bastonetes) aparecem no espectro electrónico duas bandas plasmónicas, estando relacionadas com as oscilações transversais e longitudinais. As variações observadas podem ser significativas; por exemplo, foi calculado que para partículas de forma esférica, um aumento no diâmetro médio de 10 a 100 nm origina um desvio para o vermelho de 47 nm, (Figura 1.16a) enquanto para partículas elipsóides, um aumento na razão de aspecto de 2.5 a 3.5 origina um desvio do

máximo de absorção para o vermelho da componente longitudinal da banda plasmónica de 92 nm (Figura 1.16b) [54].

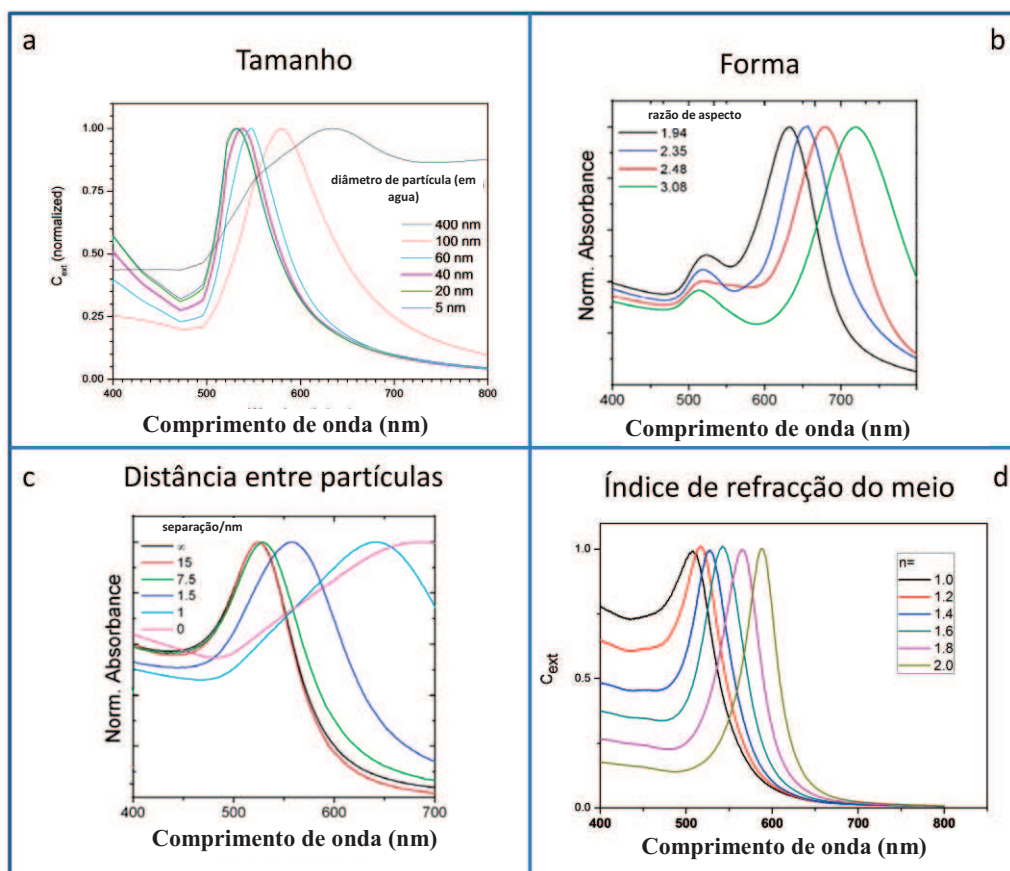


Figura 1.16. Factores que afectam a frequência de ressonância plasmónica: (a) diâmetro das NPs; (b) razão de aspecto em nanobastonetes; (c) separação entre NPs e (d) índice de refração do meio em que as NPs se encontram. (a e d) Espectros ópticos obtidos pela simulação das condições apresentadas utilizando o software MiePlot v4.1 [55] ou (b e d) espectros obtidos a partir de resultados experimentais [54].

A resposta óptica de nanopartículas metálicas depende também de outros parâmetros, tais como a função dieléctrica do meio circundante (Figura 1.16d) [56-59] e a distância entre nanopartículas vizinhas que por sua vez determina a o acoplamento plasmónico entre partículas (Figura 1.16c) [60-62]. A variação concertada destes parâmetros permite a manipulação das propriedades ópticas de nanoestruturas de ouro. Mais especificamente, está bem estabelecido que a posição espectral da ressonância SP é desviada para maiores comprimentos de onda quando é aumentada a constante dieléctrica do meio circundante. Isto deve-se ao enfraquecimento da força restauradora devido à formação de cargas polarizantes na interface com o dieléctrico [56]. Para além

disso, quando as NPs de ouro se aproximam, para distâncias comparáveis com o seu diâmetro, a banda SPR característica da NP isolada começa a desviar-se para o vermelho e apresenta-se alargada, como resultado da interacção dipolo-dipolo [60]. No limite, o sistema comporta-se como um fio metálico contínuo.

Nanopartículas magnéticas

As propriedades magnéticas dos materiais resultam do movimento de cargas. A contribuição mais significativa é consequência do movimento dos electrões nas orbitais e de *spin*. Outras contribuições menores podem ainda surgir de efeitos magnéticos nucleares. A estrutura electrónica de uma NP é fortemente dependente do tamanho o que influencia o comportamento magnético. Muitos fenómenos físicos (tamanho dos domínios magnéticos, fenómenos de acoplamento, etc.) que determinam as propriedades magnéticas dos materiais ocorrem a uma escala micro- e nanométrica [63].

Todos os materiais reagem ao efeito de um campo magnético externo, podendo ser classificados consoante o resultado desta interacção é uma força atractiva (como no caso do ferromagnetismo e paramagnetismo) ou repulsiva (diamagnetismo). A natureza destas forças atractivas ou repulsivas pode ser descrita em termos da formação de dipolos magnéticos, isto é, minúsculas barras magnéticas que possuem pólos opostos.

Se o material não apresenta dipolos magnéticos na ausência de um campo magnético e apresenta dipolos magnéticos fracos na presença de campo, o material designa-se diamagnético. A magnetização de um material diamagnético ocorre na direcção oposta à do campo, resultando assim numa força repulsiva fraca. Exemplos de substâncias e materiais diamagnéticos são a água e a maioria dos polímeros.

Se o material apresenta dipolos magnéticos orientados ao acaso que podem ser alinhados por acção de um campo magnético externo, é designado paramagnético (Figura 1.17). A magnetização do material paramagnético ocorre na mesma direcção do campo externo. Estes materiais caracterizam-se ainda por uma fraca interacção entre os dipolos. A curva de magnetização destes materiais caracteriza-se por uma variação linear da susceptibilidade inversamente proporcional à temperatura (lei de Curie). Entre os

materiais paramagnéticos podemos encontrar os metais alcalinos (como o lítio e sódio), os metais alcalino-terrosos (como o magnésio, cálcio e bário), metais terrosos (como o alumínio) e metais de transição (como a platina).

Para um material ferromagnético, os dipolos magnéticos existem sempre, mesmo na ausência de um campo magnético externo e exercem um efeito de longo alcance. Macroscopicamente, tal material apresenta um momento magnético permanente. Os materiais ferromagnéticos são ainda caracterizados por uma interação de troca, comportamento de histereses e uma coercibilidade finita, H_c . Na curva de magnetização típica (Figura 1.17), a magnetização encontra-se sempre desfasada do campo magnético aplicado, o que origina um ciclo de histereses devido à presença de domínios magnéticos no material. Da análise da curva de magnetização é possível obter o valor da magnetização de saturação M_s , ou o valor máximo de M , a magnetização remanescente M_r ou a magnetização residual na ausência de campo, a coercibilidade H_c ou o valor do campo externo que é necessário para reduzir a magnetização de volta a zero. Exemplos de materiais ferromagnéticos são os metais Fe, Co e Ni, assim como as ligas metálicas, CoPt, CoPt₃, FePt, FePt₃, FeCo.

A diferença na origem do momento magnético permanente pode também ser usado para distinguir ferromagnetismo quer de ferrimagnetismo quer de antiferrimagnetismo. No material ferrimagnético existem sempre dipolos magnéticos mais fracos alinhados antiparalelamente com os dipolos magnéticos mais fortes adjacentes, na ausência de campo magnético externo. Exemplos de materiais ferrimagnéticos são os óxidos de ferro: magnetite, Fe₃O₄ e maguemite, γ -Fe₂O₃ e as ferrites, MFe₂O₃ em que M = Co, Ni, Co, Mn, etc. Para um material antiferromagnético, os dipolos adjacentes são antiparalelos, na ausência de um campo externo, cancelando-se mutuamente. Exemplos de materiais antiferromagnéticos são: MnO, CoO, NiO.

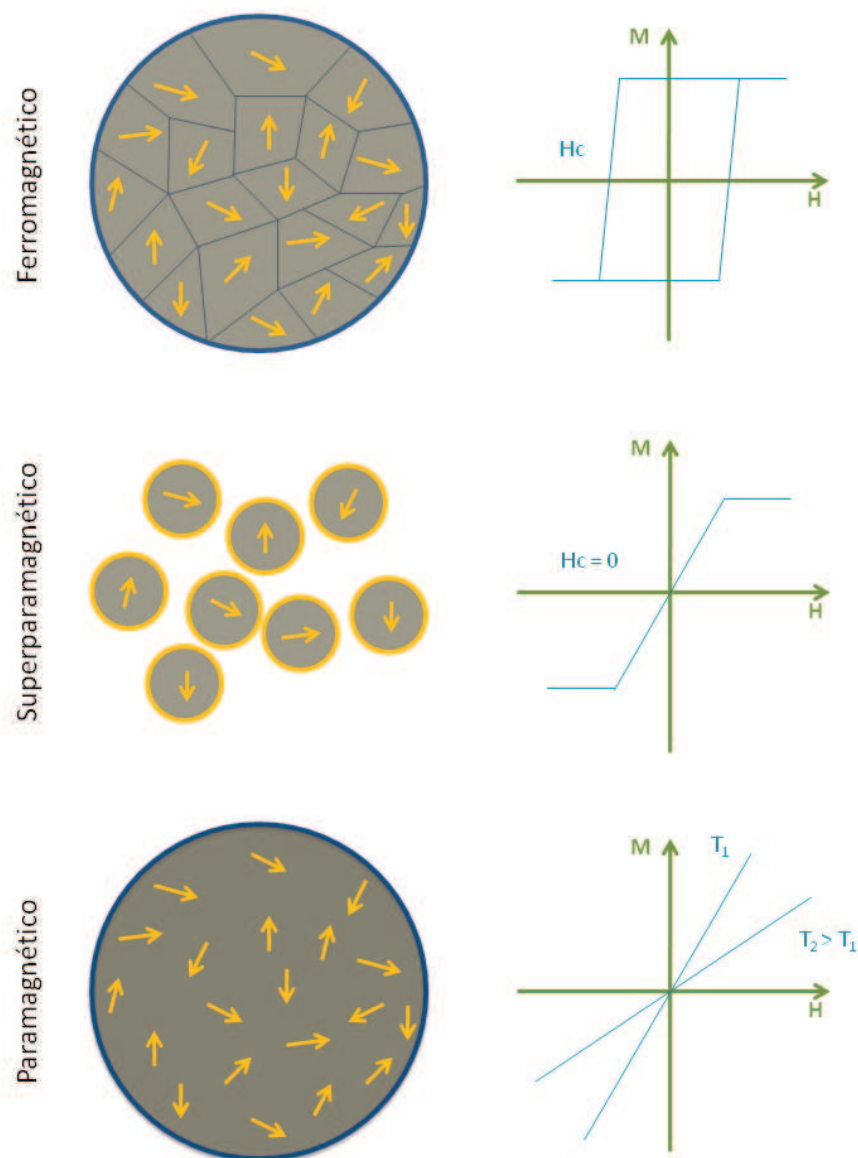


Figura 1.17. Diferentes tipos de comportamento magnético [64].

Um material ferro- ou ferrimagnético macroscópico encontra-se dividido em domínios de dipolos paralelos (Figura 1.17). A inversão da magnetização é facilitada por um mecanismo de rotação gradual da direcção dos momentos magnéticos individuais nas paredes do domínio o que faz baixar a coercibilidade (Figura 1.18) [65].

Com a diminuição do tamanho de partícula abaixo de um certo valor crítico, a formação de domínios torna-se energeticamente desfavorável e a partícula magnética apenas pode conter um domínio magnético. Este tamanho crítico é característico da composição do material. As NPs magnéticas são invariavelmente mono-domínios [65]. Numa partícula

mono-domínio, a mudança na orientação da magnetização só pode ocorrer através de uma rotação coerente dos *spins*, o que origina uma coercibilidade comparativamente elevada (Figura 1.18) [30].

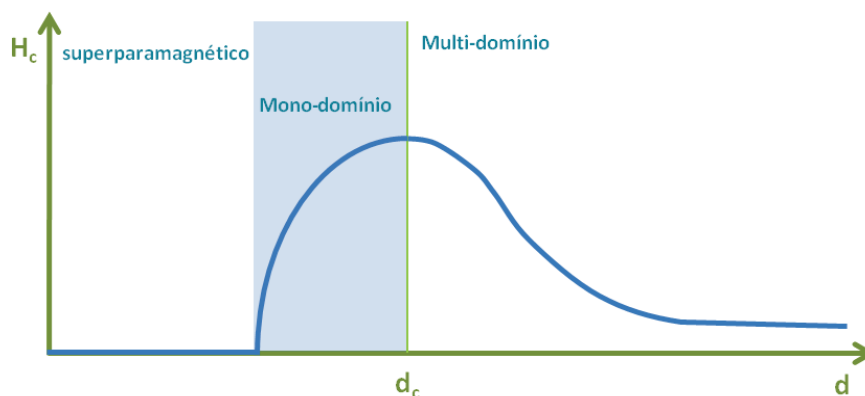


Figura 1.18. Variação da coercibilidade da partícula em função do seu tamanho. A coercibilidade é máxima para um tamanho de partícula crítico, d_c , que corresponde à transição de uma estrutura multi-para mono-domínio. A coercibilidade é nula para NPs superparamagnéticas.

Ao reduzir ainda mais as dimensões do material ferromagnético atinge-se um tamanho de partícula para o qual a energia de agitação térmica ($K_B T$) é suficiente para desalinhar a orientação da componente da magnetização, de tal forma que na ausência de um campo magnético externo, a magnetização resultante é nula. Estes materiais não apresentam coercibilidade e comportam-se como paramagnetes com um momento magnético clássico elevado. Este tipo de comportamento situa-se entre o comportamento ferromagnético e o comportamento paramagnético, pelo que as NPs com estas dimensões são designadas de superparamagnéticas. A coercibilidade é largamente superada pelo papel crescente da agitação térmica ($H_c = 0$) (Figura 1.18).

1.3. Preparação de NPs em soluções coloidais – generalidades

A preparação de partículas com um controlo apertado do tamanho e/ou morfologia, é conseguido através da interacção concertada de átomos ou moléculas durante o processo de síntese, que ocorre geralmente em fase vapor ou líquida. A precipitação em fase líquida a partir de soluções homogéneas é a mais atractiva para o controlo da morfologia das partículas, pois pode ser manipulado um grande número de variáveis experimentais,

incluindo o tipo e concentração de reagentes, temperatura, pH (em soluções aquosas), presença de aditivos (tensioactivos, sais, polímeros, etc...), propriedades do solvente (temperatura de ebulição, afinidade com as superfícies criadas), adição de sementes, entre outros. A interacção destes factores durante os processos de nucleação e crescimento das partículas, ditarão o tamanho e/ou morfologia final das partículas.

Os princípios aqui discutidos são válidos para muitos métodos de preparação de nanopartículas inorgânicas com elevado grau de reprodutibilidade. Exceptuam-se no entanto, por exemplo, métodos em meios confinados, como as reacções realizadas nos poros de um material sólido ou em meios micelares ou vesiculares [14].

De acordo com a teoria clássica, a nucleação engloba um conjunto de eventos que resultam na formação de um núcleo de tamanho crítico da nova fase [66-68]. A variação da energia livre de Gibbs relacionada com este processo reflecte o balanço entre duas contribuições: (a) uma contribuição negativa da variação do potencial químico relacionada com a transição entre as fases líquida e sólida, resultante da relaxação da sobressaturação (termo em volume) e (b) uma contribuição positiva devida à criação de uma nova superfície, isto é, a energia de superfície do núcleo primário (termo de superfície):

$$\Delta G = 4\pi r^2 \gamma + \frac{4}{3} \pi r^3 \Delta G_v \quad (1.6)$$

γ é a energia livre de superfície e tem sempre um valor positivo; ΔG_v é a variação de energia do sólido e é de valor negativo desde que a solução se encontre em condições de sobressaturação (equação 1.7):

$$\Delta G_v = -RT \ln S/V_m \quad (1.7)$$

Como resultado deste balanço, a variação da energia livre de Gibbs (ΔG) atinge um máximo, ΔG^* , para um certo valor do raio do núcleo, designado por raio crítico, r^* (Figura 1.19). Para um valor do raio superior a r^* o crescimento da partícula é acompanhado por uma diminuição da energia livre e por isso o processo ocorre naturalmente; quando o núcleo é menor do que r^* , o seu crescimento implica um aumento de energia e existe a

tendência para que este núcleo se dissolva. Podemos determinar o valor do raio crítico, considerando $d\Delta G/dr = 0$:

$$r^* = \frac{-2\gamma}{\Delta G_v} = \frac{2\gamma V_m}{RT \ln S} \quad (1.8)$$

A equação (1.8) mostra a influência do papel da sobressaturação S , no processo de nucleação homogênea: a sobressaturação deverá ser suficientemente elevada de forma que o raio crítico seja menor do que o tamanho dos núcleos primários formados [69, 70]. Por outro lado, o valor do raio crítico acompanha o valor da sobressaturação ao longo de todo o processo de formação das partículas. Desta forma, a sobressaturação é o factor termodinâmico responsável pelos fenómenos de nucleação e crescimento.

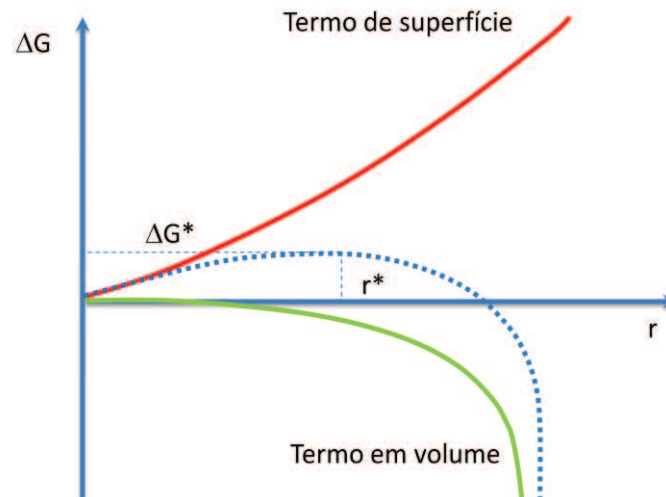


Figura 1.19. Esquema representativo da variação da energia livre de Gibbs.

Uma vez que os núcleos primários são muito pequenos, contendo apenas 10-1000 moléculas ou iões, pequenas flutuações térmicas poderão contribuir para uma certa probabilidade de ultrapassar ou não a barreira de energia de Gibbs, o que ditará a sobrevivência dos núcleos primários e posterior crescimento. Apenas uma parte de matéria está envolvida na nucleação e como consequência as condições de sobressaturação persistentes permitem o crescimento das partículas. Enquanto a nucleação determina o número de partículas e assim o seu tamanho final, a cinética de crescimento vai determinar a velocidade de consumo do material existente e assim a rapidez com que as condições de sobressaturação são suprimidas.

A investigação dos mecanismos de precipitação de partículas coloidais com uma distribuição uniforme data dos anos 40 do século passado, quando LaMer e Dinegar introduziram o conceito de “nucleação instantânea” (“*burst nucleation*”). Neste processo, é formado um elevado número de núcleos primários num curto período de tempo, que crescem posteriormente sem ocorrer nova nucleação. Como a formação de núcleos ocorre de forma quase simultânea, o histórico de crescimento é praticamente o mesmo. Esta é a essência do processo de “nucleação instantânea” que torna possível um controlo apertado da distribuição de tamanhos de partícula como um todo durante o processo posterior de crescimento [71]. Existem fundamentalmente duas formas de conseguir “nucleação instantânea”: pela injeção dos reagentes no solvente a alta temperatura, “injeção a quente” (“*hot injection*”) [72-74] e pelo aquecimento de toda a solução, “aquecimento em lote” (“*heating up*”) [75-78].

A técnica de “injeção a quente” foi introduzida por Bawendi e colaboradores para a preparação de nanopartículas de calcogenetos de cádmio (discutido na secção seguinte) [79]. Um elevado grau de sobressaturação é conseguido pela injeção rápida de uma solução “fria” de um precursor reactivo (em excesso) num solvente de elevado ponto de ebulição, a uma temperatura elevada. Ocorre desta forma um processo de nucleação muito rápido que visa reduzir o excesso de energia livre resultante do aumento rápido da sobressaturação. No decorrer deste processo, a concentração do precursor na solução diminui drasticamente e a velocidade de nucleação baixa consideravelmente. Por outro lado, a diferença de temperaturas da mistura reaccional e da solução de precursor provoca, no instante imediatamente a seguir à injeção, uma diminuição significativa da temperatura do sistema, que reduz a velocidade de nucleação. O processo de crescimento posterior ocorre de forma concertada pelos núcleos primários formados, que irão consumir os restantes reagentes existentes na solução. Este método tem sido o método de eleição para a preparação de nanocristais com elevada qualidade de calcogenetos metálicos [72, 79], metais de transição [73] e metais nobres [74].

O método de “aquecimento em lote” é um processo em que a mistura dos precursores, reagentes e solventes é feita a baixas temperaturas (geralmente temperatura ambiente)

que depois é aquecida até uma certa temperatura para que ocorra a reacção. Este método, pela sua simplicidade, é particularmente vantajoso para produção a uma larga escala.

Surpreendentemente, para alguns casos, a uniformidade de tamanhos das nanopartículas formadas é comparável aos resultados obtidos para o “método de injeção” [75, 77]. Estudos realizados para a preparação de NPs de óxidos de ferro, a partir da decomposição térmica de oleato de ferro, demonstraram que o mecanismo de “aquecimento em lote” segue uma cinética semelhante ao proposto por LaMer. A decomposição do oleato de ferro para a formação dos óxidos de ferro passa pela formação de espécies intermediárias de ferro. Estas espécies intermediárias, e não o oleato de ferro, servem de precursores da formação do óxido de ferro e consequentemente contribuem para a sobressaturação. Estes precursores irão acumular-se no meio reaccional até que o nível de sobressaturação atinja um valor crítico, suficiente para ultrapassar a barreira de energia livre de Gibbs. Após o sistema atingir este grau de sobressaturação crítica, a nucleação ocorre de forma semelhante ao descrito para o mecanismo de “injeção a quente” [80].

Após a formação dos núcleos primários, as condições de sobressaturação persistentes e a elevada energia superficial destes núcleos são suficientes para que o processo de crescimento das partículas ocorra de forma a atingirem dimensões microscópicas e até milimétricas, se as condições de sobressaturação assim o permitirem.

Da análise da equação (1.8) verifica-se que o raio crítico dos núcleos primários é função do grau de sobressaturação do sistema no momento considerado, sendo a variação temporal das condições de sobressaturação determinante do processo de crescimento das partículas. Quando a sobressaturação inicial do sistema é elevada, o raio crítico é tão pequeno que quase todos os núcleos primários conseguem superar esta barreira energética. Nesta situação, as partículas mais pequenas crescem mais rapidamente que as maiores e como resultado a dispersão de tamanhos tende a ser quase monodispersa. Este processo é conhecido como focagem.

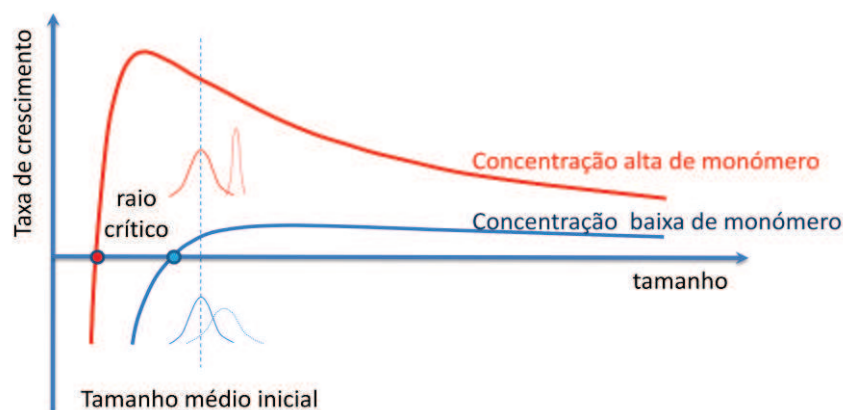


Figura 1.20. Esquema representativo da influência da sobressaturação inicial do sistema nos processos de crescimento [81].

Se a sobressaturação se encontra abaixo de um determinado valor crítico, as partículas mais pequenas dissolvem-se (o raio crítico é maior para esta situação) à medida que as partículas grandes crescem. Este processo é conhecido como o engrossamento de Ostwald (*Ostwald ripening*). A distribuição de tamanhos obtida desta forma é alargada pelo que este regime é designado de desfocagem.

A obtenção de NPs esféricas com uma distribuição estreita de tamanhos pode ser conseguida detendo a reacção enquanto ainda ocorre o regime de focagem, com uma quantidade razoável de precursores ainda presentes [81].

As NPs formadas possuem ainda uma elevada energia de superfície e têm tendência natural para continuarem a crescer. Quando a quantidade de reagentes na solução já foi praticamente toda consumida, as nanopartículas ainda podem diminuir a sua energia de superfície através de um processo de crescimento secundário, que é um mecanismo de crescimento por agregação. De forma a obter nanopartículas individualizadas, este processo deverá ser inibido pela adição de agentes tensioactivos, ou moléculas de ligandos orgânicos, que funcionalizando a superfície das nanopartículas previne a sua agregação. O revestimento da superfície das NPs com ligandos orgânicos, permite não só o controlo da velocidade de crescimento das NPs como também impede o seu crescimento por agregação. Neste caso as forças que contrabalançam a energia de superfície são de natureza electrostática, impedimento estérico e por formação de uma camada de hidratação à superfície.

A escolha adequada dos tensioactivos e do solvente determinam a estabilidade final das NPs. A ligação do tensioactivo na superfície das NPs pode ocorrer por formação de uma ligação, interacção electrostática ou hidrofóbica. A interacção do ligando com o solvente garante a estabilidade das soluções coloidais. Se o ligando usado é polar ou possui carga, as NPs serão estáveis em solventes polares ou soluções aquosas. Se o ligando é apolar, como uma cadeia de hidrocarbonetos, as NPs são estáveis em solventes orgânicos, como por exemplo, hexano, tolueno ou clorofórmio. Em solventes orgânicos, a superfície das NPs está revestida de moléculas hidrofóbicas que previnem a agregação. A ligação entre a molécula e a superfície ocorre através de um grupo funcional com um par dador de electrões, como um tiol [82-84], aminas ou fosfinas [85].

Em soluções aquosas, a interacção entre ligando e NP é basicamente a mesma, mas existem alguns factores a ter em consideração. Em geral, as partículas hidrofílicas são estabilizadas por repulsão electrostática pelas moléculas com a mesma carga coordenadas à superfície da NP. Esta repulsão electrostática está dependente das condições do meio; por exemplo, na presença de elevadas concentrações de sal, o campo eléctrico repulsivo das NP é atenuado e as partículas poderão aproximar-se entre si, por acção de forças atractivas, como interacções de dipolos induzidos (forças de van der Waals) ou por pontes de hidrogénio, provocando a sua aglomeração [86]. Em soluções aquosas é ainda importante a estabilidade em função do pH da solução. Dependendo do ponto isoeléctrico as NPs podem perder ou mudar completamente o sinal da sua carga superficial, o que provoca a sua agregação e sedimentação.

Síntese de NPs semicondutoras – QDs

Os métodos pioneiros de preparação de soluções coloidais de QDs não permitiam a preparação de QDs de elevada qualidade, no que diz respeito à cristalinidade das fases obtidas assim como a distribuição de tamanhos, como sendo os casos de precipitação, por interrupção da reacção logo após a fase de nucleação. A síntese de nanopartículas em estruturas confinadas, como por exemplo em zeólitos, apresenta problemas na recuperação e funcionalização dos QDs. Na literatura podemos encontrar vários artigos

de revisão sobre a síntese de QDs [87, 88] e nesta secção apenas iremos focar os aspectos relacionados com a química de QDs de materiais dos grupos II/VI.

Foi após o trabalho de Murray, Norris e Bawendi, que a preparação de QDs de elevada qualidade em quantidades razoáveis se tornou possível [79]. Estes autores demonstraram que nanocristalites de semicondutores do tipo CdE (E = S, Se Te) com um controlo apertado do tamanho, poderiam ser obtidas pela injeção de dimetilo de cádmio ($\text{Cd}(\text{CH}_3)_2$) e uma fonte do calcogeneto respectivo num solvente a temperaturas elevadas (tipicamente entre 200 – 300° C). A injeção dos precursores a temperaturas elevadas resulta num processo de “nucleação instantânea” com a formação de núcleos primários na solução homogénea (processo já aqui discutido). Esta rápida nucleação reduz numa grande escala a concentração de reagentes e limita a probabilidade de ocorrência de novos episódios de nucleação. Os núcleos formados crescem consumindo os precursores restantes da solução.

Estas temperaturas elevadas são conseguidas pela utilização de solventes de elevado ponto de ebulição como o caso do óxido de trioctilfosfina (TOPO). Por outro lado, as moléculas do solvente possuem normalmente a capacidade de coordenar à superfície dos nanocristais formados, servindo de barreira contra a coalescência das NPs e, deste modo, evitando que se forme o material macrocristalino. Os QDs produzidos por este método e estratégias similares são de elevada qualidade, isto é, consistem numa distribuição estreita de tamanhos dos nanocristais e as suas superfícies encontram-se passivadas por moléculas do solvente.

O tamanho dos nanocristais pode ser controlado pelo ajuste experimental de diversos parâmetros como o tipo de reagente, temperatura e tempo, com o tamanho das partículas a crescer com o aumento da temperatura e tempo de reacção. Ainda a velocidade de injeção, temperatura de injeção e injeções posteriores de precursores à mistura reaccional, permitem o controlo do tamanho, morfologia e do próprio polimorfo obtido [89].

O método utilizando TOPO foi adaptado com sucesso no revestimento de núcleos de QDs com uma capa de um material semiconductor de maior hiato óptico (tipicamente, ZnS).

Este processo é realizado por injeção de soluções de dimetil- ou dietilzinco e sulfureto de bis(trimetilsilil) ((TMS)₂S), no solvente contendo as NPs de CdE que servem de núcleo [42].

A maior desvantagem deste método é a toxicidade elevada e difícil manipulação dos materiais de partida. Por exemplo, o dimetilcádmio, Cd(CH₃)₂ é extremamente tóxico e pirofórico, o que se torna relevante para estes métodos a temperaturas elevadas. Embora mantendo o conceito principal do método original, foram sugeridas algumas alternativas nos últimos anos [79].

Uma das propostas foi introduzida por Trindade e O'Brien e envolve a decomposição térmica de precursores unimoleculares, isto é, um composto que contém na mesma molécula os elementos necessários à formação do material semiconductor, tal como complexos metálicos do tipo ditiocarbamato ou diselenocarbamato [90, 91]. Este método é particularmente atractivo na utilização de precursores que são estáveis e que decompõem-se num só passo para obter materiais nanocristalinos. Este é o caso da síntese de vários sulfuretos metálicos a partir de precursores como complexos de ditiocarbamato ou xantato [91, 92]. Este método tem sido também investigado para revestir QDs de CdSe com ZnS ou CdS, quer por decomposição térmica do complexo de ditiocarbamato do respectivo metal [93] ou por decomposição sonoquímica de xantatos metálicos [94].

Um avanço importante na síntese de QDs, utilizando os métodos de injeção num solvente a elevada temperatura foi descoberto por Peng e Peng no decorrer do estudo do mecanismo de formação de nanocristais semicondutores pelos mesmos métodos de síntese [95]. Estes observaram que a introdução de um ligando que coordene fortemente com o metal na mistura reaccional, como é o caso dos ácidos fosfónicos, ácido hexilfosfónico (HPA) ou tetradecilfosfónico (TDPA), o Cd(CH₃)₂ é convertido num complexo de Cd(II) com HPA/TDPA que funciona como precursor do calcogeneto de cádmio. Esta observação tem uma forte relevância porque estes complexos podem ser facilmente obtidos por dissolução de outros compostos de Cd(II), tal como CdO ou Cd(CH₃CH₂O₂)₂. Estes compostos de Cádmio são muito mais fáceis de manipular (não são sensíveis ao ar) e são mais baratos do que o Cd(CH₃)₂, o que facilita a produção a uma

maior escala (escala de gramas). Por outro lado, a reacção é possível em vários solventes orgânicos, (ácidos fosfónicos, ácidos gordos, aminas de cadeia longa) [96].

Tabela 1.1. Métodos mais comuns de síntese de QDs.

Material	Precusores	Tensioactivos	Solvente	Método	Ref ^{as}
ZnS	ZnEt ₂ , S	HDA, OAm, OAc	ODE	DT	[97]
CdS	CdMe ₂ , (TMS) ₂ S	TOP, TOPO		DT	[79]
	CdO, S	OAc	ODE	DT	[98]
	[Cd(S ₂ CO(R)) ₂] ₂ ; R = Et, decil ou hexadecil.	HDA		DT	[92, 99-101]
	[(CH ₃)CdS ₂ CN(Et) ₂] ₂ ou [Cd(S ₂ CN(Et) ₂) ₂] ₂	TOP, TOPO	TOPO	DT	[91]
CdSe	CdMe ₂ , TOPSe	TOPO		DT	[79]
	[(CH ₃)CdSe ₂ CN(Et) ₂] ₂	TOPO/TOP	TOPO	DT	[90]
	[Cd(Se ₂ CN(Et) ₂) ₂] ₂	TOPO/TOP		DT	[91]
	CdO, HPA/TDPA, Se	TOPO		DT	[95]
CdTe	CdMe ₂ , (BDMS) ₂ Te			DT	[79]
CdSe/CdS	Cd(S ₂ CNMeHex) ₂	TOPO/TOP		DT	[93]
CdS/ZnS	ZnEt ₂ , (TMS) ₂ S	TOPO	TOPO	DT	[42]
CdSe/ZnS	ZnEt ₂ , (TMS) ₂ S	TOPO	TOPO	DT	[42]
	Zn(S ₂ CNMeHex) ₂	TOPO/TOP		DT	[93]
CdSe/ZnSe	Zn(Se ₂ CNMeHex) ₂	TOPO/TOP		DT	[93]

DT, decomposição térmica

Na actualidade, a síntese de NPs utilizando solventes de elevado ponto de ebulição é a via mais comum de preparação de NPs de QDs do grupo II/VI. Embora estas NPs estabilizadas com ligandos orgânicos sejam de elevada qualidade, existe um grande interesse em desenvolver estratégias de síntese de QDs em meios aquosos com qualidade comparável. De facto, para um certo tipo de aplicações, em particular em aplicações biológicas, a estabilização em soluções aquosas é crucial. Os QDs de telureto de mercúrio (HgTe) e telureto de Cádmio (CdTe) com boas propriedades ópticas são excelentes exemplos [102]. A síntese em solução aquosa de CdS [70], CdSe [103] e CdTe [104-106] passivados com tióis foram também reportados. Estas sínteses geralmente envolvem a reacção entre um sal solúvel de Cd(II) e uma fonte de calcogeneto na presença de tiolatos, que possuem um papel estabilizante semelhante às moléculas de TOPO descritas anteriormente. No

entanto, neste caso as moléculas passivantes são anfipáticas e possuem um grupo tiol que coordena fortemente à superfície do QD e um grupo polar (-OH, -COOH ou -NH₂), que confere compatibilidade com soluções aquosas.

O desenvolvimento de metodologias baseadas em meios aquosos tem sido dificultado pela falta de alternativas no que diz respeito às fontes de calcogeneto (E=S, Se e Te), que têm-se limitado ao uso dos ácidos (H₂E) e outros sais (NaHE) correspondentes. Relativamente a esta questão, recentemente têm sido introduzidos outros precursores como o (NH₄)₂Te, obtido da reacção entre o metal Te e hidróxido de amónio na presença de alumínio, para a síntese de CdTe [107]. Apesar destas dificuldades, estas estratégias são prometedoras para expandir a disponibilidade de QDs solúveis em meio aquoso.

Síntese de nanopartículas metálicas

Os métodos convencionais de síntese de NPs de ouro baseiam-se na redução do correspondente sal de ouro (III) e podem ser divididos em dois tipos, consoante as partículas são estáveis em soluções aquosas ou em solventes orgânicos.

O método mais comum foi introduzido por Turkevich em 1951 [50] e utiliza o ião citrato como agente redutor de HAuCl₄ em soluções aquosas. Inicialmente este método estava limitado a NPs de cerca de 20 nm, mas posteriormente foi reportado que tamanhos de 16 a 147 nm podem ser obtidos variando a razão entre o reagente de ouro e o agente estabilizador/redutor [108]. A ligação do ião citrato à superfície da NP é relativamente fraca, o que é particularmente interessante quando se deseja proceder à troca do agente tensioactivo. A introdução de agentes anfifílicos baseados em tióis conjuntamente com o citrato tem sido também apresentada com sucesso [109].

A obtenção de partículas de dimensões mais reduzidas (com diâmetros entre 1.5 e 5.2 nm) com boa estabilidade, quer térmica quer por exposição ao ar, foi introduzida por Brust e Schiffrin em 1994. Estes autores desenvolveram um método que utiliza NaBH₄ como agente redutor do sal de ouro (HAuCl₄) num sistema de duas fases, tolueno/água [110]. Este método foi inspirado no método de síntese de NPs de ouro em duas fases originalmente desenvolvido por Faraday mais de um século antes. [46] O ião AuCl₄⁻ é

transferido para a fase orgânica pela acção de um tensioactivo (brometo de tetraoctilamónio, TOAB) o que permite a redução do ião de ouro (III) pelo NaBH_4 . A ligação do tensioactivo TOAB à superfície das NPs formadas não é suficientemente forte para garantir a estabilidade a longo prazo do coloide. Este problema foi ultrapassado pela adição de ligandos tióis de cadeia longa, que coordenam fortemente à superfície das NPs devido ao carácter macio do Au e S. [110, 111] As NPs assim formadas são bastante estáveis em solventes orgânicos. Posteriormente estes autores desenvolveram um método de síntese de NPs de ouro estabilizadas por *para*-mercaptófenol num sistema monofásico [111]. Este trabalho tem sido uma referência na preparação de uma grande variedade de NPs de ouro estabilizadas por tióis [112, 113].

O método de redução pelo ião citrato tem como desvantagem a dificuldade de obter partículas de maiores dimensões mantendo a forma esferóide e a uniformidade morfológica. O mesmo método pode ser aplicado à síntese de NPs de prata mas o controlo do tamanho final das partículas é limitado [53]. Desta forma foram desenvolvidas alternativas que utilizam outros agentes redutores.

Murphy e colaboradores [114] conseguiram obter NPs de ouro com tamanhos entre 5 e 40 nm, utilizando diferentes agentes redutores para a preparação de sementes e para a fase de crescimento. As sementes de ouro foram preparadas por redução de um sal de ouro (HAuCl_4) com NaBH_4 , na presença de ião citrato. Na fase de crescimento a redução do sal de ouro ocorre por acção de ácido ascórbico. Para aumentar a estabilidade das partículas durante a fase de crescimento, foi adicionado outro agente tensioactivo complementar ao ião citrato, CTAB. O ácido ascórbico é um redutor muito fraco, revelando-se ineficaz na redução dos iões de Au(III) a Au^0 , em solução. No entanto, na presença de sementes de Au, formadas previamente por redução de NaBH_4 , revela-se bastante eficaz na redução de ouro na superfície das sementes e no crescimento controlado destas [114].

Perrault e colaboradores [115] conseguiram aumentar o tamanho de sementes de NPs de ouro, preparadas por redução com ião citrato, até uma gama de tamanhos de 50 a 200 nm, sem perda significativa quer de esfericidade quer de monodispersidade,

utilizando (na fase de crescimento) um agente redutor mais suave como a hidroquinona. A presença do ião citrato na superfície das NPs continua a desempenhar um papel importante já que garante um crescimento controlado das NPs. Inicialmente produzem-se sementes de NPs de ouro, pelo método do citrato e o crescimento posterior é garantido pela acção do outro agente redutor. A hidroquinona catalisa a redução dos iões livres de ouro na superfície das partículas já formadas enquanto a presença do ião citrato serve de estabilizador de forma a controlar o crescimento.

Tabela 1.2. Métodos mais comuns de síntese de NPs de Au e Ag.

Material	Precusores	Tensioactivos	Solventes	Método	Ref ^{as}
Au	HAuCl ₄ , Citrato	Citrato	Aq.	R	[50] [108]
	HAuCl ₄ , Citrato	tiois	Aq	R	[109]
	HAuCl ₄ , NaBH ₄	TOAB, DDT	Tolueno/água	R	[110]
	HAuCl ₄ , NaBH ₄	<i>p</i> -mercapto fenol	MeOH	R	[111]
	HAuCl ₄ , NaBH ₄ , Ac. Ascórbico	Citrato/CTAB	Aq.	R	[114]
	HAuCl ₄ , Citrato, hidroquinona	Citrato/CTAB	Aq.	R	[115]
	HAuCl ₄ , Na ₃ Cit, acrilato de sódio	Acrilato de sódio, Ac. acrílico	Aq.	R	[116]
	HAuCl ₄ , EG	OAm, OAc, PVP	Aq.	R	[117]
Ag	Ag(NO ₃), OAm	OAm	Parafina	R	[118]

R, redução; Aq. solução aquosa.

Njoki e colaboradores utilizaram ácido acrílico para preparar sementes de Au com menos de 25 nm que depois foram utilizadas para obter partículas de maiores dimensões por acção de citrato de sódio, acrilato de sódio e ácido acrílico, que funcionam quer como agentes redutores, quer como agentes estabilizantes, obtendo NPs de ouro de forma esférica e com uma estreita distribuição de tamanhos, numa vasta gama de 10 a 100 nm [116].

No método poliol, a redução do sal do metal dá-se por acção de um poliálcool, que no caso mais simples poderá ser etileno glicol. Este método originalmente desenvolvido para obter partículas com dimensões tipicamente micrométricas [119, 120] pode ser adaptado para obter NPs por adição de estabilizantes tensioactivos como oleilamina, ácido oleico e PVP (polivinilpirrolidona). As NPs de ouro preparadas pelo método poliol com oleilamina e ácido oleico apresentam um comportamento ferromagnético [117]. A oleilamina tem-se

revelado por si só como um agente redutor de íons metálicos e foi demonstrada a preparação de NPs de Ag [118].

Síntese de nanopartículas magnéticas

As NPs de óxidos metálicos são das mais utilizadas em aplicações biológicas. São particularmente interessantes em imagiologia de ressonância magnética (MRI) e em hipertermia. Os materiais mais frequentes nestas aplicações são FeO, γ -Fe₂O₃ (magnetite) e Fe₃O₄ (magnetite), que apresentam diferentes propriedades magnéticas. O FeO é um material paramagnético à temperatura ambiente e antiferromagnético com uma temperatura de Néel (T_N) de 183K. A magnetite tem uma estrutura do tipo espinela com lacunas catiónicas e é ferrimagnética. A magnetite tem uma estrutura de espinela invertida e é ferrimagnética [121].

Um método comum de preparação de óxidos ferrimagnéticos é o chamado método de Massart [122], que consiste na coprecipitação de sais de ferro Fe(II) e Fe(III) em meio básico (usando soluções de NaOH ou amónia). Este método é vantajoso pela sua simplicidade o que permite a sua utilização em larga escala na preparação de grandes quantidades. A maior desvantagem deste método é a dificuldade de controlo do tamanho e distribuição de tamanhos. De forma a garantir a estabilidade da suspensão são adicionados íons citrato [123], hidrazina [124] e ácido oleico [125]. Este último método é vantajoso quando se deseja obter NPs estáveis em solventes orgânicos.

A decomposição térmica de precursores contendo Ferro em solventes de alto ponto de ebulição tem sido o método de excelência para a preparação de NPs monodispersas de óxidos de Ferro, com diâmetros que variam entre 3 e 50 nm. Vários complexos de Ferro têm sido usados, incluindo sais de carboxilato, (Fe(CO)₅); acetato, Fe(CH₃CO₂)₂; acetilacetato, Fe(acac)₃; cupferronato, (Fe(Cup)₃); carboxilato e cloreto [126-135].

Tabela 1.3. Métodos mais comuns de síntese de NPs com propriedades magnéticas.

Material	Precusores	Tensioactivos	Solventes	Método	Ref ²⁵
CoPt	Co(CO) ₃ NO, Pt(acac) ₂ , HDD	OAc, OAm	OE	DT, R	[136]
	Co(Ac) ₂ , Pt(acac) ₂ , PEG200	OAc, OAm	PE	R	[137]
FePt	Fe(CO) ₅ , Pt(acac) ₂ , HDD	OAc, OAm, HDD	OE	DT, R	[138]
	Fe(CO) ₅ , Pt(acac) ₂	OAc, OAm	BE	DT	[139]
	Fe(acac) ₂ , Pt(acac) ₂ , HDD	OAc, OAm, HDD	OE	R	[140]
CoPt₃	Co ₂ (CO) ₈ , Pt(acac) ₂ , HDD	ACA, HDA	PE, DCB	DT, R	[141, 142]
	Co(CO) ₃ NO, Pt(acac) ₂ , HDD	OAc, OAm	OE	DT, R	[136]
FeCoPt	Fe(CO) ₅ , Pt(acac) ₂ , Co(acac) ₂ , HDD	OAc, OAm, HDD	OE	DT, R	[143]
MnO	Mn(Ac) ₂	OAc		DT	[144]
	Mn(acac) ₂	OAm, H ₂ O		DT	[145]
	Mn ₂ (CO) ₁₀	OAm, TOP		DT	[146]
γ-Fe₂O₃	Fe(Cup) ₃	TOA, OA		DT	[126]
	Fe(CO) ₅ , TMNO	OAc, LAc ou SAc	OE	DT, Ox.	[127-129]
	Fe(CO) ₅	DDA ou TOPO	ODCB	DT	[129]
	Fe(CO) ₅ , ar	OAc	OE	DT	[131]
	Fe(acac) ₃ , HDD	OAc, OAm, HDD	PE	R	[132]
	FeCl ₃ ·6H ₂ O, FeCl ₃ ·4H ₂ O	OAc	ODE	DT	[133]
	FeO(OH)	OAc	ODE	DT	[78]
	FeCl ₃ ·6H ₂ O, Na(OAc)	OAc	ODE	DT	[77]
	Fe(II), Fe(III), NaOH/NH ₃		Aq.	H	[122]
Fe₃O₄	Fe(II), Fe(III), NaOH/NH ₃	Citrato	Aq.	H	[123]
	Fe(II), Fe(III), NaOH/NH ₃	Hidrazina	Aq.	H	[124]
	Fe(II), Fe(III), NaOH/NH ₃	OAc	Aq.	H	[125]
	Fe(CO) ₅ , OAc, TMNO	OAc	OE	DT, Ox.	[147]
	Oleato de Ferro	OAc	ODE	DT	[133]
	Fe(acac) ₃ , HDD	OAc, OAm	PE	DT, R	[132]
	Fe(acac) ₃ , OAm	OAm	BE	R	[148]

DT, Decomposição térmica; R, redução; H, hidrólise; Ox. Oxidação.

As NPs de ligas metálicas de Ferro e Platina, assim como de Cobalto e Platina, têm sido sintetizadas a partir de adaptações ao método “poliol”. Geralmente recorre-se à decomposição de sais dos metais (Fe(CO)₅, Pt(acac)₂ e Co₂(CO)₈) e/ou redução (Fe(acac)₂ e Pt(acac)₂) utilizando polióis como agentes redutores (por exemplo, 1,2-hexadecanodiol ou

PEG-200). As reacções são efectuadas na presença de moléculas estabilizantes (ácido oleico, oleilamina, ACA e HDA) em solventes de elevado ponto de ebulição (por exemplo, éter benzílico) (Tabela 1.3) [136-143].

1.4. Modificação superficial de NPs

A maior parte dos métodos de síntese para a preparação de NPs de boa qualidade (discutidos na secção anterior), dão origem a NPs hidrofóbicas, como resultado da utilização de solventes de elevado ponto de ebulição e da passivação da superfície com moléculas orgânicas. A formação de uma interface à superfície da NP, que permita a transferência de fase das NPs hidrofóbicas para meios aquosos e que introduza funcionalidades químicas passíveis de interagir com biomoléculas, é um passo imperativo para a aplicação biológica de NPs. As entidades biológicas são especialmente sensíveis ao meio, em particular às condições de pH e força iónica de soluções aquosas. Por outro lado, as NPs deverão ser suficientemente estáveis em soluções aquosas, para que sejam compatíveis com os fluidos biológicos. Estes meios revelam-se por vezes agressivos para as NPs, por exemplo por processos de oxidação degradativa. De particular interesse é o destino das NPs em organismos vivos. É provável que quantidades significativas de NPs sejam digeridas por fagócitos e macrófagos, com implicações imprevisíveis em termos de toxicidade [149]. A maioria das NPs não revestidas (ou revestidas apenas pelos tensoactivos introduzidos durante a síntese) apresenta significativa citotoxicidade [150-152]. A interacção das NPs com o sistema imunitário é discutida num artigo de revisão publicado recentemente [153].

O desenvolvimento de uma interface que sirva de barreira protectora para as NPs assume assim um papel não menos importante. Com este objectivo, duas vias gerais foram desenvolvidas: a troca dos ligandos originais (geralmente hidrofóbicos, mas não exclusivamente) por moléculas hidrofílicas, processo designado por “troca de ligandos”; ou o encapsulamento das NPs em revestimentos heterofuncionais, a partir de interacções hidrofóbicas específicas com as moléculas estabilizadoras (Figura 1.22).

Utilizando a primeira metodologia, a troca do ligando envolve a substituição das moléculas estabilizantes nativas, introduzidas durante o processo de síntese, por moléculas orgânicas ambidentadas. Estas são moléculas bifuncionais que podem simultaneamente coordenar à superfície da NP através de um grupo ácido fraco (geralmente um tiol, para NP de materiais semicondutores e de metais nobres, e um álcool ou ácido carboxílico para óxidos) e pela presença de grupos hidrófilos (por exemplo, grupos carboxílicos ou amínicos) estabilizar as NPs em solução aquosa. De uma forma geral, a molécula do ligando utilizado para a substituição apresenta uma maior afinidade para a superfície do que o ligando original.

Geralmente, nos métodos de síntese descritos em solução aquosa, as moléculas estabilizantes introduzidas no processo de síntese, nem sempre se revelam eficazes para a estabilização das NPs nas condições exigidas para o processo de biofuncionalização. Um exemplo comum é o caso das NPs de Au sintetizadas em solução aquosa por redução utilizando íões citrato. As NPs formadas possuem íões citrato de carga negativa adsorvidos à superfície, que garantem a estabilidade coloidal por repulsão electrostática. Enquanto estes coloides podem ser estáveis por longos períodos (até anos) na solução reaccional, estes são sensíveis a alterações do meio, podendo formar agregados de forma irreversível na presença de sais. Os íões citrato podem ser substituídos por grupos que formem uma ligação química à superfície mais forte. Os exemplos mais comuns são os ácidos mercaptocarboxílicos [83] e as fosfinas sulfonadas [154-156]. As NPs modificadas com fosfinas sulfonadas revelam uma grande estabilidade, permitindo que possam ser precipitadas por agregação induzida por adição de sal, e redispersas de novo. O ligando fosfina pode ser então substituído por um ligando contendo um tiol, estratégia essa que é muito comum para a ligação de DNA funcionalizado com grupos tiol a NPs de ouro [155].

Têm sido utilizados vários ligandos monotióis para substituir os ligandos hidrofóbicos nativos em QDs (em geral, TOPO). No entanto, uma diminuição do rendimento quântico de luminescência em função do tempo tem sido reportada [157-161]. Uma explicação plausível poderá estar relacionada com a fraca coordenação destes tióis à superfície do QD, devido à natureza dinâmica da ligação tiol-ZnS [162]. De facto, a substituição por

politióis ou polifosfinas resulta geralmente numa melhoria significativa da estabilidade dos QDs [163, 164]. As NPs de Au e Ag sintetizadas em meio orgânico são frequentemente estabilizadas com tiois (por exemplo, dodecanotiol) ou com aminas de cadeia longa (por exemplo, oleilamina). Estes estabilizantes hidrofóbicos podem ser substituídos da mistura reaccional, por ligandos multifuncionais contendo, em adição aos grupos tiol, grupos álcool, amino e/ou ácidos carbóxicos [165, 166], o que permite a transferência das NPs para a fase aquosa, assim como a introdução de grupos funcionais.

A troca por ligandos macromoleculares, como no caso de dendrímeros resulta numa estabilidade melhorada [167-169]. O encapsulamento dos QDs oferece uma protecção superior devido ao grau de reticulação destas estruturas supramoleculares. Este tipo de estruturas também foi reportado para o caso de NPs de ouro [169], assim como Fe_3O_4 [170].

A segunda estratégia que pode ser utilizada para promover a hidrofilicidade de NPs envolve o crescimento de uma capa de sílica amorfa que pode ser posteriormente funcionalizada com outras moléculas ou polímeros [171]. O revestimento com sílica começa com uma reacção de troca em que os ligandos originais são substituídos por silanos, que para o caso de NPs de QDs e Au poderá ser mercaptopropiltrimetoxissilano (MPS). A condensação dos grupos metoxissilano ocorre por uma reacção de hidrólise em meio alcalino. O crescimento da capa de sílica ocorre através da hidrólise de um alcóxido de silício (TEOS), de acordo com o método de Stöber. A reactividade da sílica amorfa tem sido estudada para uma grande variedade de aplicações e a vasta química dos siloxanos pode ser utilizada para ancorar uma grande variedade de moléculas orgânicas e funcionalidades na superfície [172]. No entanto, este método apresenta a desvantagem de resultar numa grande dispersão de tamanhos.

Encontram-se na literatura inúmeros trabalhos sobre a funcionalização de NPs hidrofóbicas de uma grande variedade de materiais, como Fe_3O_4 , Au, Ag e CdSe/ZnS, com uma camada muito fina de sílica [173]. O revestimento é realizado por reacção de trimetoxissilanos funcionalizados com grupos hidrófilos (no lugar do convencional TEOS) com a superfície das NPs hidrofóbicas, em fase orgânica (tolueno), dando origem a um

conjugado NP-silano. Devemos aqui considerar duas situações distintas: Por um lado, os trimetoxissilanos podem reagir directamente com a superfície de NPs de óxidos (como por exemplo, Fe_3O_4) em meio básico, devido à ocorrência de grupos hidroxilo na superfície destes óxidos. Os silanos são escolhidos para que a condensação de sílica seja iniciada preferencialmente à superfície. A reacção de condensação é então limitada pela precipitação das NPs na fase orgânica, o que previne não só a formação de uma camada de sílica espessa, como também a formação de ligações entre partículas. Por outro lado, no caso de NPs de Au, Ag e CdSe/ZnS, a primeira etapa da funcionalização da superfície ocorre de forma semelhante ao mecanismo de troca dos ligandos originais por silanos descrito anteriormente, isto é, utilizam-se inicialmente moléculas de mercaptometoxissilanos (frequentemente, MPS) que coordenam à superfície das NPs por intermédio do grupo tiol. A condensação dos grupos metoxissilano ocorre por uma reacção de hidrólise em meio alcalino e a adição de outro silano hidrófilo termina a camada de sílica e confere assim funcionalidade às NPs. A formação de uma camada fina de sílica apresenta algumas vantagens: é um processo simples, reproduzível e passível de ser realizado em maior escala, até miligramas de material. A escolha do silano permite a obtenção de diversos grupos funcionais, como por exemplo, aminas, fosfatos, PEG, etc. [173].

Outro método de revestimento de NPs com sílica envolve a formação de microemulsões *água-em-óleo* e foi reportado para uma grande variedade de NPs hidrofóbicas: CdSe, CdSe/ZnS, PbSe, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e para misturas de NPs, CdSe e $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, na preparação de nanocompósitos multifuncionais [174-177]. A formação de uma microemulsão resulta da utilização de um tensoactivo não iónico (como por exemplo, a família de éteres de alquilfenoxipolietoxietanol, com as designações comerciais Igepal[®] e Triton[®] X) numa fase orgânica (ciclohexano), com adição de uma base como por exemplo amónia. As NPs dispersas na fase orgânica, migram para o interior aquoso da microemulsão. A hidrólise e condensação do precursor de sílica (TEOS) ocorrem à superfície da NP hidrofóbica, devido à afinidade do TEOS hidrolisado com a superfície da NP, que vai substituir o ligando nativo. O mecanismo de incorporação da NP hidrofóbica nas esferas de sílica, pela troca do ligando nativo pelo TEOS hidrolisado foi descrito recentemente [178]. De notar que

quando as NPs estão funcionalizadas com um ligando que tenha uma forte ligação à superfície, como por exemplo, QDs passivados com ligandos com tiois, o mecanismo de substituição é impedido e resulta em partículas em que o QD se encontra descentrado ou à superfície da esfera de sílica.

Recentemente foi reportado um método simples que permite o revestimento de NPs individualizadas, com sílica mesoporosa, com um bom controlo tanto da espessura da capa de sílica como da distribuição final de tamanhos. O processo de revestimento é iniciado por uma etapa de transferência de fase, em que as NPs inicialmente preparadas em meio orgânico são transferidas para a fase aquosa recorrendo a soluções concentradas de CTAB. A estabilidade das NPs em solução aquosa, é garantida pela formação de uma dupla camada constituída pelas moléculas de tensioactivo, introduzida durante a síntese das NPs (geralmente ácido oleico ou TOPO) e as moléculas de CTAB. A adição de TEOS à suspensão aquosa das NPs, em meio alcalino, leva à formação da capa de sílica. Devido ao carácter ligeiramente hidrofóbico da molécula de TEOS, a reacção de hidrólise ocorre preferencialmente na interface entre as moléculas de tensioactivo, isto é, à superfície das NPs [179, 180]

As estratégias de modificação superficial de NPs não se limitam aos métodos de substituição das moléculas ligando nativas por ligandos ambidentados. A transferência de NPs para meio aquoso pode também ser conseguida pelo encapsulamento das NPs utilizando macromoléculas anfipáticas. Estas moléculas envolvem as NPs criando uma espécie de “invólucro”. A função hidrofóbica da capa interage com as cadeias longas dos tensioactivos nativos das NPs (TOPO, OAc, OAm, etc.) à superfície, enquanto a função hidrófila aponta para a fase aquosa. Este tipo de encapsulamento já foi reportado para co-polímeros anfífilicos [181, 182], fosfolípidos [183-185] e moléculas volumosas tal como de calixarenos [186, 187]. No entanto, este método não se restringe a moléculas anfífilicas. As NPs podem ser encapsuladas com polímeros através de um processo de transferência de fase em microemulsões *óleo-em-água*, na presença de um tensioactivo [188]. A evaporação do solvente e reticulação do polímero resulta em estruturas robustas, com as NPs encapsuladas em polímero [188].

A utilização de matrizes poliméricas pode produzir um sem número de nanoestruturas com diversas aplicações. Adicionalmente às propriedades singulares das NPs, há um interesse crescente em explorar efeitos de sinergia que poderão surgir da combinação com a matriz polimérica. Por exemplo, a estabilidade coloidal de QDs revestidos com moléculas orgânicas, garantida em meios orgânicos pelos estabilizantes nativos na superfície, pode ser explorada para preparar nanocompósitos poliméricos por um processo de polimerização *in situ* em miniemulsão, na presença dos QDs.

As técnicas de polimerização em emulsão e mais especificamente, de polimerização em miniemulsão, revestem-se de especial relevância no contexto desta tese, pelo que são aqui apresentadas detalhadamente.

Um sistema clássico de emulsão é constituído por uma fase aquosa, monómero (ou conjunto de monómeros, no caso de uma co-polimerização), tensioactivo e iniciador (solúvel em água). A formação de micelas estáveis em solução ocorre quando se ultrapassa a chamada concentração micelar crítica (CMC) do agente tensioactivo, e cujas dimensões são determinadas pela quantidade de tensioactivo. Neste tipo de polimerização, para um monómero de baixa solubilidade em água, podemos identificar três fases distintas [189]. Na fase inicial, após a mistura vigorosa dos componentes do sistema, ocorre a formação de reservatórios de monómero (gotas) e micelas de tensioactivo. A decomposição térmica do iniciador dá origem a radicais na fase aquosa que iniciam o processo de polimerização. Os oligómeros formados, à medida que vão crescendo, migram através da fase aquosa para o interior das micelas pré-existentes ou, caso atinjam dimensões suficientes, dão origem a novas micelas, onde continua a polimerização. Cria-se assim um gradiente de difusão entre as gotas de monómero e as micelas, que vai consumindo gradualmente o monómero, diminuindo o tamanho dos seus reservatórios (gotas) [190].

Na segunda fase cessa a formação de novas partículas e as micelas são agora partículas de polímero em crescimento. Nesta fase existem ainda pequenas gotas de monómero que vão reduzindo o seu tamanho, mas o número de partículas é constante.

Na fase final, já não existem gotas de monómero nem micelas, mas apenas partículas de polímero em crescimento. O monómero restante encontra-se no interior das partículas onde vai sendo consumido sem depender agora da difusão do monómero para o interior destas. O tamanho e o número das partículas mantêm-se constantes, enquanto a concentração do monómero no interior das partículas vai diminuindo, e consequentemente diminui também a velocidade de polimerização.

No sistema de emulsão, as gotas de monómero são relativamente grandes ($1 - 10 \mu\text{m}$) quando comparadas com as dimensões das micelas ($10 - 20 \text{ nm}$) [191], do que resulta uma grande diferença de área superficial. Consequentemente, a probabilidade de um radical entrar nas gotas de monómero é muito baixa, e a maior parte das partículas formam-se por nucleação homogénea (no interior da micela) ou heterogénea (no meio aquoso) [191]. Uma vez nucleadas, as partículas crescem por polimerização e o monómero tem de ser transportado para o interior das micelas, por difusão através da fase aquosa.

Esta difusão pode ser limitada se a nucleação ocorrer no interior das gotas de monómero, o que só ocorrerá se a área superficial destas for suficientemente grande (da ordem da dimensão das micelas), ou seja, se existirem gotas de monómero estáveis com dimensões sub-micrométricas. Esta é a ideia subjacente ao conceito de miniemulsão, assim denominada por tratar-se de dispersões do tipo *óleo-em-água* com dimensões sub-micrométricas, estáveis por um longo período de tempo [192].

No caso da polimerização por miniemulsão, além de todos os componentes presentes num processo convencional de suspensão ou emulsão, é necessária a presença de um agente hidrófobo. Tal como no caso da emulsão, a concentração do tensioactivo no sistema determina o tamanho das partículas poliméricas [193], mas neste caso a estabilização das gotas de monómero na miniemulsão deve-se maioritariamente ao agente hidrófobo [194]. Para se preparar uma miniemulsão estável, é então necessária uma mistura eficiente dos vários componentes do sistema. Neste sentido, deve-se ter uma agitação vigorosa para que se formem gotas de monómero na fase aquosa. Nesta

primeira fase estas gotas de monómero apresentam uma distribuição de tamanhos larga (Figura 1.21, Fase I).

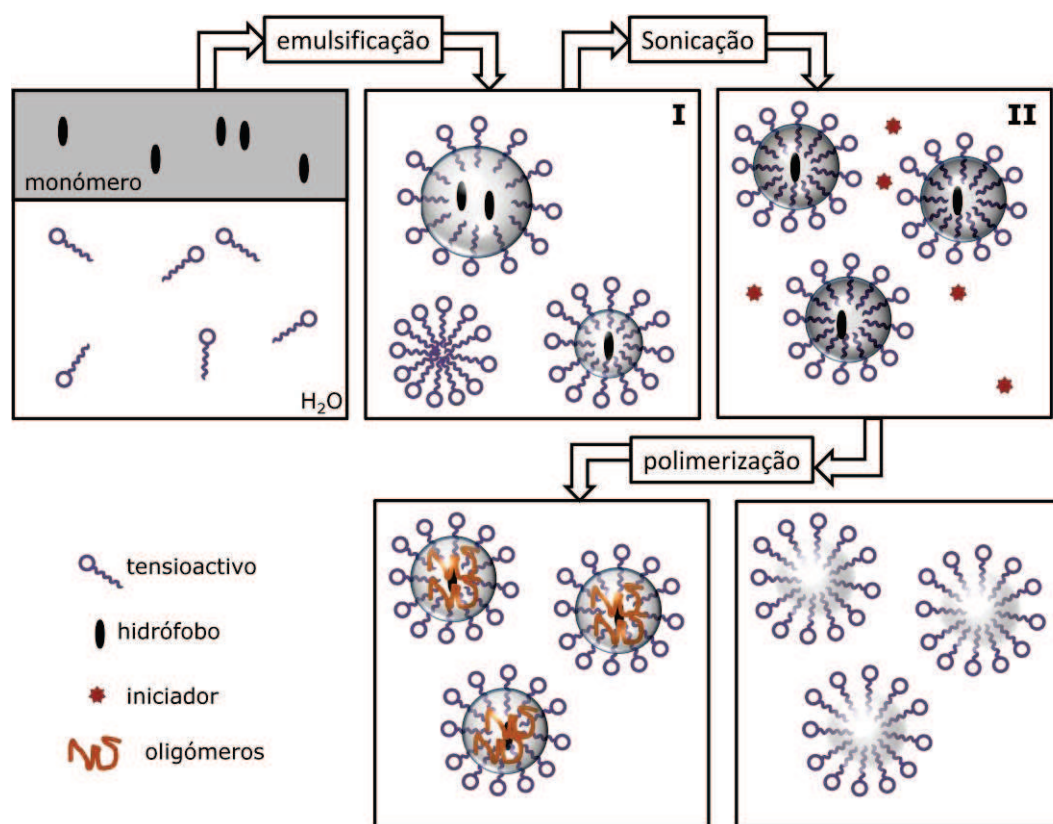


Figura 1.21. Esquema da polimerização em miniemulsão.

A esta mistura é aplicada uma fonte de elevada energia (ultra-sons) que dá origem a fenómenos de cisão entre as gotas de monómero. Algum tempo após submeter o sistema a ultra-sons (processo aqui designado por sonicação), este atinge um estado de equilíbrio em que a distribuição de tamanhos das gotas de monómero é homogénea e estreita (Figura 1.21, Fase II). Nesta fase as gotas de monómero encontram-se estabilizadas pelo tensioactivo, que previne o crescimento das partículas por coalescência, e também pelo hidrófobo, que evita o crescimento das gotas por engrossamento de Ostwald. Após esta fase inicia-se a polimerização pela formação de radicais livres como consequência da decomposição térmica dos iniciadores (Figura 1.21).

A estabilidade do sistema de miniemulsão depende criticamente da natureza e concentração do agente tensioactivo. A principal vantagem do processo de polimerização

em miniemulsão surge do facto de não existirem micelas no meio aquoso e portanto todas as gotas de monómero são nucleadas.

A obtenção de uma miniemulsão estável e a variação do diâmetro das gotas de monómero depende essencialmente de dois processos: o engrossamento de Ostwald e a coalescência [192, 195, 196]. O engrossamento de Ostwald consiste no crescimento das partículas maiores a partir das mais pequenas, e pode ser reduzido pela adição do agente hidrófobo. as gotas de monómero maiores têm uma área superficial menor e como tal o monómero tende a difundir para as gotas maiores. Tendo o agente hidrófobo uma solubilidade reduzida em água, a sua difusão é lenta e este actua como “co-estabilizador” das gotas de monómero mais pequenas, retardando a difusão de monómero destas para as gotas maiores [197]. No caso da coalescência, os choques entre as gotas de monómero devido a movimentos Brownianos e as forças de Van der Waals, podem destabilizar a miniemulsão podendo este processo ser reduzido através da escolha de um tensoactivo apropriado [198].

O método de miniemulsão foi estudado com uma grande variedade de materiais inorgânicos tais como, TiO_2 [199-201], SiO_2 [202] e pós de carbono negro [203], em que as partículas são dispersas na fase orgânica, constituída pelo monómero, sem a necessidade de tratamento prévio da superfície. Mais recentemente a capsulação de NP hidrofóbicas por métodos de polimerização por miniemulsão *in situ* foi demonstrado para poliestireno (PS) [204, 205], poliacrilato de butilo (PBA) [204, 206] e co-polímeros de poliestireno e polimetacrilato de metilo (PS/PMMA) [207].

No caso dos nanocompósitos de QDs em matrizes poliméricas, o comportamento óptico dos nanocompósitos está dependente de um variado número de parâmetros, que inclui principalmente o tipo de polímero utilizado. Por exemplo, o estudo do comportamento óptico de QDs de CdSe em PBA demonstrou que estes nanocompósitos apresentam forte luminescência quando comparados com os nanocompósitos análogos com PS [208].

Deve-se salientar que nestas estratégias aparentemente não ocorre a formação de ligações covalentes fortes entre as moléculas passivantes e as moléculas do polímero. De

facto, as condições experimentais devem ser optimizadas de forma a limitar a migração das NPs para a superfície das esferas poliméricas.

A co-polimerização em miniemulsão de QDs funcionalizados com grupos vinilo com estireno, foi investigada. A introdução do grupo vinilo na superfície dos QDs ocorre por troca do ligando nativo por 4-mercaptovinilbenzeno e os QDs assim funcionalizados foram dispersos em gotas de estireno. Apesar de neste caso ocorrer ligação entre os QDs e o polímero, ainda se observa migração dos QDs para a superfície, o que é acompanhado por uma deterioração da fotoluminescência do material final [205].

De forma a tentar minimizar o efeito de deterioração das propriedades de emissão por fotoluminescência, foi reportado um método híbrido que contempla num primeiro passo a formação de uma camada de sílica na superfície dos QDs, seguido de um processo de co-polimerização com a superfície. Esta reacção de co-polimerização ocorre através da funcionalização da superfície de sílica com um silano que possui grupos metacrilóxi polimerizáveis, 3-metacrilóxi-propil-trimetoxi-silano (MPTMS). Os resultados obtidos são satisfatórios, ocorrendo uma pequena diminuição da intensidade da luminescência [209].

A ampla distribuição de tamanhos dos materiais compósitos e as dificuldades em obter distribuições homogéneas de NPs no interior das partículas poliméricas, associado por vezes a um efeito de deterioração de propriedades, em particular as propriedades ópticas de QDs assim como a popularização e desenvolvimento de métodos de polimerização viva controlada, levaram os investigadores a desenvolver métodos de polimerização iniciada na superfície.

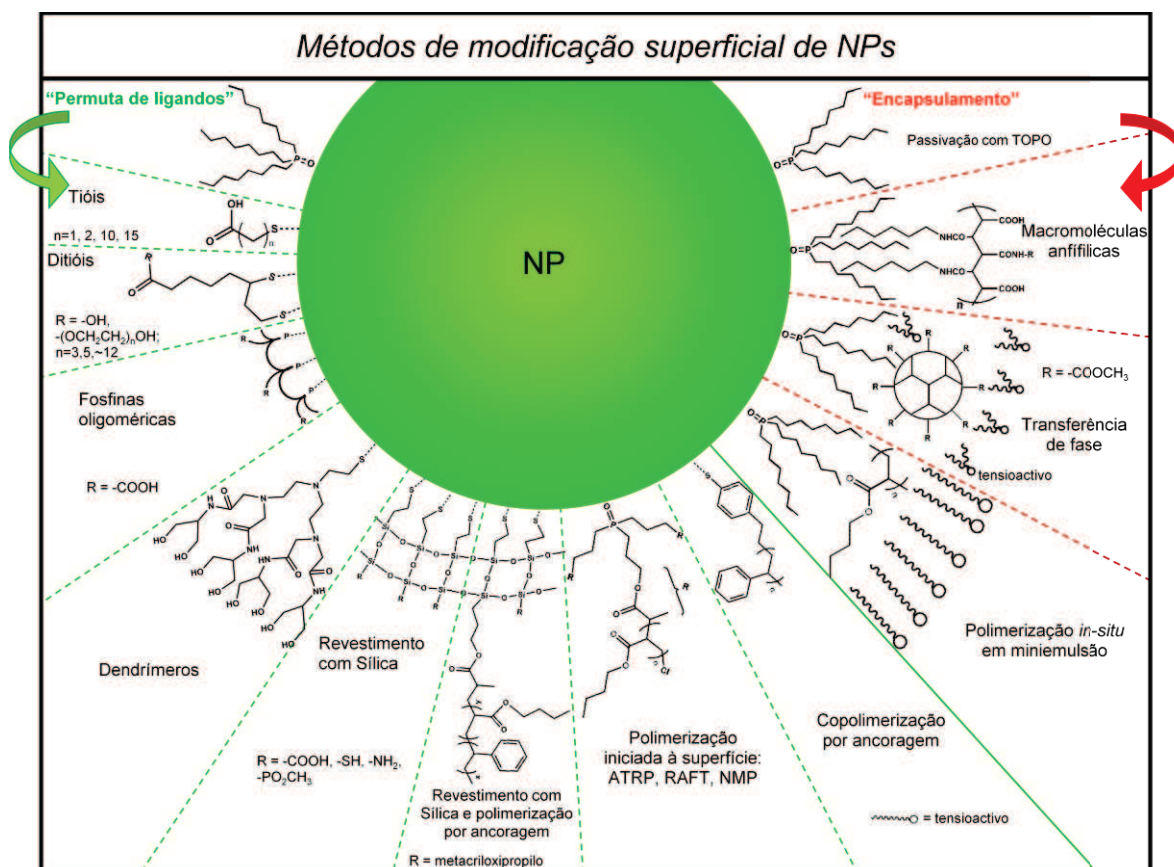


Figura 1.22. Esquema dos métodos de modificação superficial e funcionalização de NPs.

Esta metodologia foi demonstrada com sucesso para o crescimento controlado de cadeias poliméricas a partir da superfície de várias NPs inorgânicas, tais como: ouro, [210, 211] SiO_2 , [212, 213] e magnetite [214].

Mais recentemente, estes métodos de polimerização iniciada à superfície foram reportados para o caso de QDs. Assim, tem havido um desenvolvimento intenso destas técnicas aplicadas especificamente à superfície de QDs, tais como: polimerização controlada por reacções reversíveis de adição-fragmentação de agentes de transferência de cadeia (RAFT) [215], polimerização mediada com nitroxidos (NMP) [216] e polimerização radicalar por transferência de átomo (ATRP) [217].

A Figura 1.22 sumariza as principais metodologias de modificação superficial de NPs discutidas nesta secção.

1.5. Métodos de bioconjugação e aplicações biológicas de NPs

Tal como descrito anteriormente, a modificação superficial pode ser efectuada com materiais diversos, dando origem a NPs ou nanocompósitos estáveis e compatíveis em meios biológicos. Após a modificação superficial das NPs é ainda necessário efectuar a ligação efectiva à entidade biológica. Nesta secção descrevem-se os métodos de bioconjugação destas NPs ou nanocompósitos com entidades biológicas de interesse.

Esta ligação poderá ser efectuada de diversas formas, representadas esquematicamente na Figura 1.23, e que podem ser agrupadas de acordo com o tipo de interacção:

- Formação de uma ligação covalente entre grupos funcionais introduzidos na superfície das NPs e grupos funcionais presentes nas entidades biológicas;
- Introdução de intermediários biológicos com elevada especificidade;
- Interacção electrostática;
- Adsorção não-específica de proteínas à superfície das NPs.

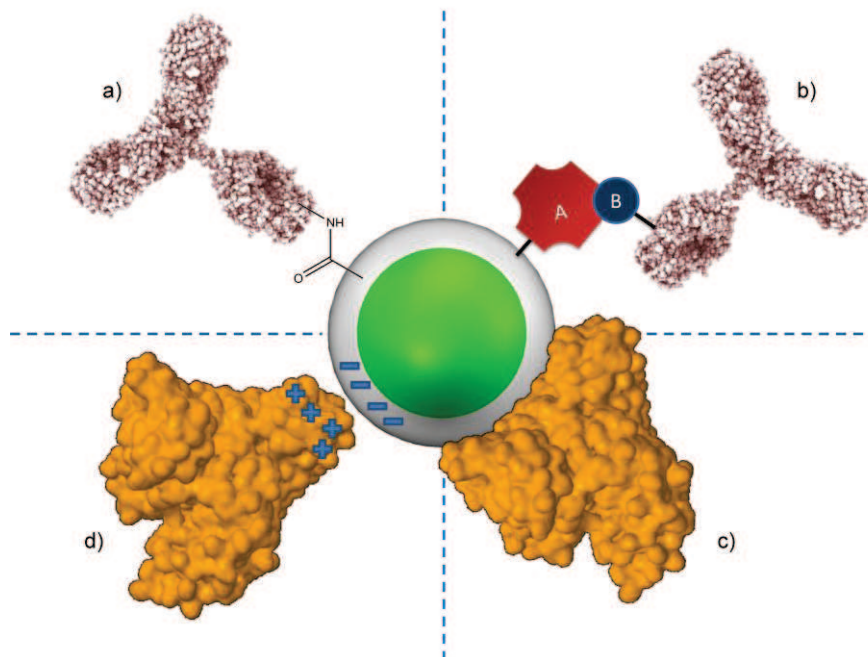


Figura 1.23. Esquema representativo dos diferentes tipos de bioconjugação: a) ligação química covalente; b) Ligação utilizando intermediários biológicos (A: Avidina, B: Biotina); c) interacção hidrofóbica (adsorção) e d) interacção electrostática.

Ligação química covalente

A formação de uma ligação química covalente entre certos grupos funcionais existentes na superfície das NPs, ou introduzidos pela modificação superficial das NPs, como discutido no ponto anterior (secção 1.4), com grupos funcionais existentes nas entidades biológicas, pode ser efectuada aproveitando diversas reacções químicas conhecidas [218]. Nesta secção são apresentadas as mais importantes estratégias de bioconjugação através da formação de uma ligação covalente entre as NPs (ou a sua superfície) e as entidades biológicas.

Acoplamento utilizando carbodiimidas

Apesar de ser possível formar ligações amida por reacção directa entre um grupo carboxílico e um grupo amina, a eficiência da reacção pode ser melhorada através do uso de aditivos. A estratégia mais comum recorre à activação dos grupos carboxílicos por reacção com uma carbodiimida e formação de um intermediário de *O*-acilisourea, bastante reactivo. O reagente carbodiimida mais popular é o hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC ou EDAC) (Figura 1.24). O intermediário de *O*-acilisourea pode sofrer ataque de espécies nucleófilas como grupos aminas, formando-se uma ligação amida (Figura 1.24). Este método tem sido utilizado para a conjugação de grupos ácido carboxílico terminais na superfície de NPs e grupos amina livres em proteínas [219]. Esta estratégia tem sido aplicada ao acoplamento de enzimas em NPs, com retenção de até 50-80% da actividade enzimática [220].

Outra vantagem deste procedimento é que ocorre por ligação directa dos grupos funcionais sem ser necessário recorrer a nenhuma espécie de acoplamento longa, evitando o aumento do raio hidrodinâmico da NP [181].

No entanto, a reactividade elevada do intermediário *O*-acilisourea pode apresentar algumas desvantagens: estes grupos podem hidrolisar facilmente em solução aquosa regenerando os grupos ácidos carboxílicos (Figura 1.24). De forma a prevenir a reversibilidade desta reacção, os grupos carboxílicos activados podem reagir com bis-*N*-hidroxisuccinimida (NHS) ou com sulfo *N*-hidroxisuccinimida (sulfo-NHS) formando um

éster succinimida (Figura 1.24) [221]. O grupo éster activo possui um tempo de meia-vida superior ao do intermediário *O*-acilisourea e permite também a reacção com aminas primárias [222].

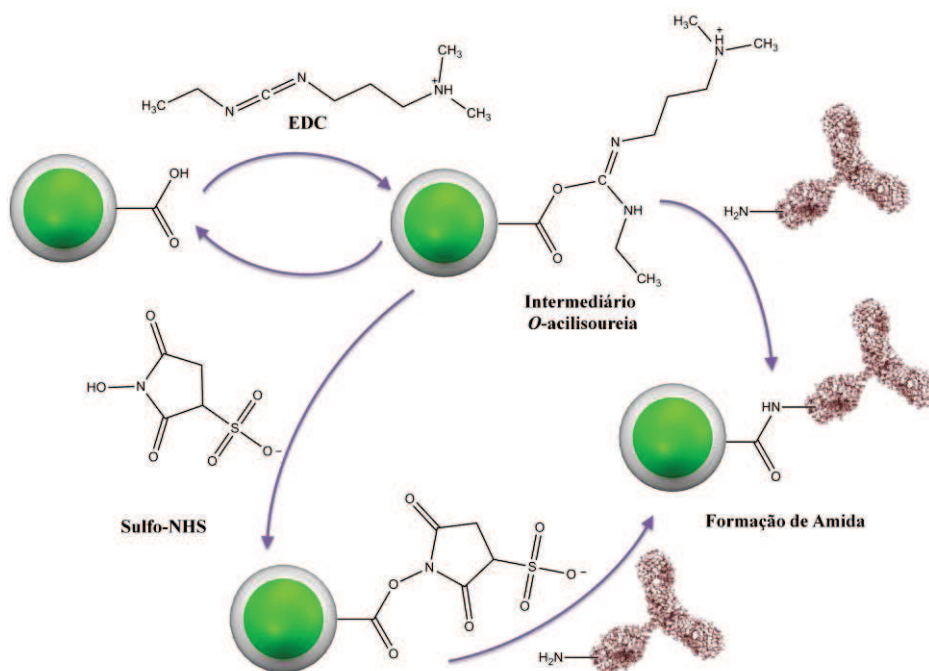


Figura 1.24. Esquema representativo da reacção de bioconjugação utilizando carbodiimidas.

De particular utilidade é a bis-*N*-hidroxisuccinimida que pode ser utilizada isoladamente, sem a adição do agente de activação carbodiimida, permitindo a conjugação de dois grupos amina devido aos dois grupos éster NHS presentes [223].

A conjugação de grupos hidroxilo com grupos carboxílicos activados é ainda possível via uma reacção de desidratação, originando uma ligação éster, por oposição à formação da ligação amida [150, 224, 225].

Acoplamento utilizando maleimidas

A função maleimida pode ser utilizada para a conjugação de aminas primárias com grupos tióis como ilustrado na Figura 1.25, com formação de uma ligação amida-tioéter [226]. O reagente de acoplamento mais utilizado é o carboxilato de 1-sulfo succinimidil-4-(maleimidometil)ciclohexano (sulfo-SMCC). O acoplamento maleimida tem sido usado

para a conjugação de biomoléculas como ADN [184], fármacos (Herceptin) [227] e proteínas [228, 229] com NPs. Lee e colaboradores [230] utilizaram maleimida para o acoplamento de anticorpos com nanoestruturas multifuncionais de NPs de óxido de ferro com NPs de sílica dopadas com corantes, com associação de funcionalidades de agentes de contraste de MRI com fluorescência.

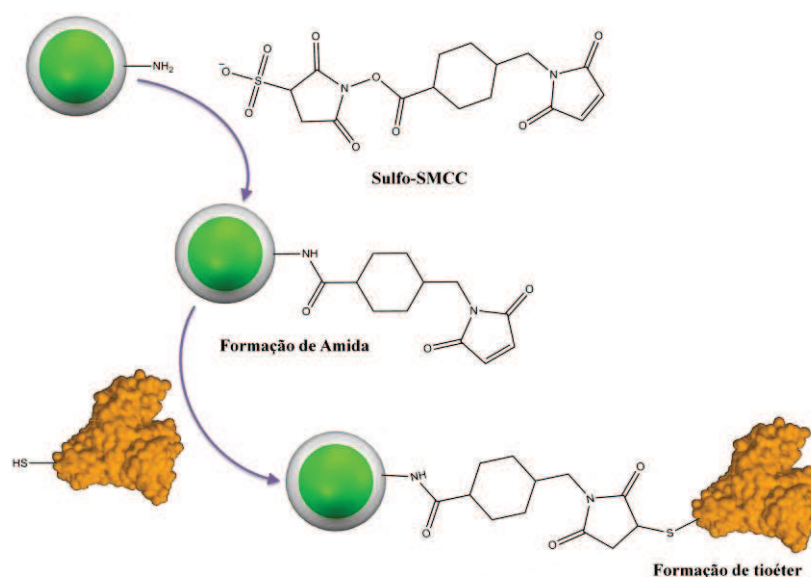


Figura 1.25. As NPs com grupos amina primários à superfície podem reagir com grupos éster activos formando ligações amida. O Sulfo-SMCC é um agente bifuncional que possui um grupo sulfo-NHS e uma função maleimida na outra ponta que é reactiva na presença de grupos tiol.

Acoplamento através de reacções do tipo “Click” - “Click Chemistry”

Outro método que começa a ganhar importância como método de bioconjugação de NPs é o conjunto de reacções de cicloadição alcino-azida catalisadas por Cu(I) também conhecidas como “CuAAC” ou reacções do tipo “click” (“click chemistry”). Estas envolvem o acoplamento de um alcino com uma azida, dando origem a um anel triazol, o que resulta na formação de uma forte ligação covalente entre NPs e entidades biológicas (Figura 1.26).

Este processo tem-se demonstrado bastante versátil, sendo adequado para a conjugação de uma variedade de espécies biológicas e ainda de moléculas pequenas. Esta versatilidade é ainda traduzida na possibilidade de expressar quer o grupo alcino, quer o grupo azida na entidade biológica, utilizando o grupo complementar funcional na

superfície das NPs. Combinando este facto com a variedade de grupos funcionais disponíveis para a formação da ligação NP-ligante, este procedimento tem um grande potencial para o acoplamento de material biológico [231]. Além disso, este processo permite ainda a introdução de múltiplas funcionalidades nas NPs [232]. No entanto, o procedimento tem a desvantagem de os métodos de preparação do grupo azida ou alcino serem muitas vezes demorados e de baixo rendimento [233]. Assim, enquanto a etapa final de cicloadição se procede de forma rápida e com alta produtividade, o processo de funcionalização global pode acabar por ser longo e ineficaz.

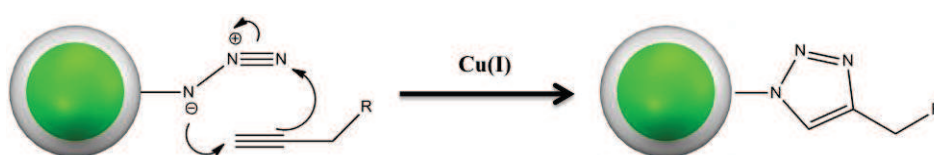


Figura 1.26. A reacção do tipo “click” ocorre por cicloadição alcino-azida catalizada por Cu(I), resultando na formação de uma ligação cíclica 1,2,3-triazole.

A necessidade de utilizar iões Cu(I) como catalisador, previne o uso deste tipo de reacção na presença de células ou em organismos, devido à toxicidade do metal. No entanto, recentemente foi desenvolvido um método de reacção do tipo “click”, que recorre à cicloadição de azidas a ciclooctino que não requer o uso de Cu(I) como catalisador, permitindo a sua utilização em organismos [234].

Acoplamento através de pontes dissulfureto

O acoplamento químico de NPs a entidades biológicas pode ainda ser conseguido através da formação de pontes dissulfureto [235, 236]. A ligação de NPs utilizando pontes dissulfureto pode ser vantajosa devido à reversibilidade da reacção. Tian e colaboradores [237] demonstraram a formação de pontes dissulfureto entre NPs de sílica e NPs de Fe₃O₄ por um processo de oxidação mediado pela enzima glutationa (formação de ligação oxidativa) e posterior clivagem da ligação utilizando ditioneitol (DTT) (clivagem redutora). Esta abordagem pode ser adaptada para a libertação controlada de fármacos, dada a presença natural de agentes de clivagem, como a glutationa redutase (GSH) [238], em concentrações apreciáveis *in vivo*.

Interacção específica entre intermediários biológicos

Acoplamento mediado pela ligação Avidina-Biotina

A utilização das propriedades extraordinárias de reconhecimento molecular presentes na natureza tem inspirado o desenvolvimento de novos métodos de bioconjugação. Talvez o exemplo mais conhecido seja o sistema Avidina-Biotina [239, 240]. O sistema consiste num ligando, que é uma molécula de reduzidas dimensões, a Biotina (ou vitamina H), e um receptor, a proteína Avidina. Esta proteína globular consiste em quatro subunidades idênticas, formando quatro cavidades que reconhecem especificamente e formam uma ligação à Biotina (Figura 1.23 b), podendo suportar até um máximo de quatro ligações. A ligação, apesar de não ser covalente, é extremamente estável, resistindo condições químicas e de temperatura agressivas. Para além da proteína natural Avidina, proteínas análogas podem ser utilizadas como por exemplo, a Estreptavidina e a Neutravidina.

A biotina é uma molécula de dimensões reduzidas que possui um grupo carboxílico livre. Este grupo pode ser utilizado para formar uma ligação covalente a funcionalidades existentes na superfície de NPs, ou ligar-se directamente à superfície da NP, após modificação adequada [241].

Acoplamento utilizando resíduos de histidina

A adição de um fragmento péptico terminal que consiste em seis resíduos de histidina, ("6-His-tag") a uma proteína permite a formação de uma ligação de coordenação com um catião metálico que pode, por sua vez, encontrar-se coordenado por grupos de ácido nitriloacético à superfície de uma NP (Figura 1.27). Este tipo de ligação é utilizado, por exemplo, na separação magnética de proteínas extraídas directamente do lisado celular [242, 243] e na ligação de enzimas específicas à superfície de NPs de Au com retenção quase completa da actividade enzimática [244]. Esta interacção é capaz de detectar as proteínas com um resíduo de histidina terminal em concentrações tão baixas quanto 0.5 pM, prevenindo os problemas associados à ligação não-específica de proteínas indesejadas [243].

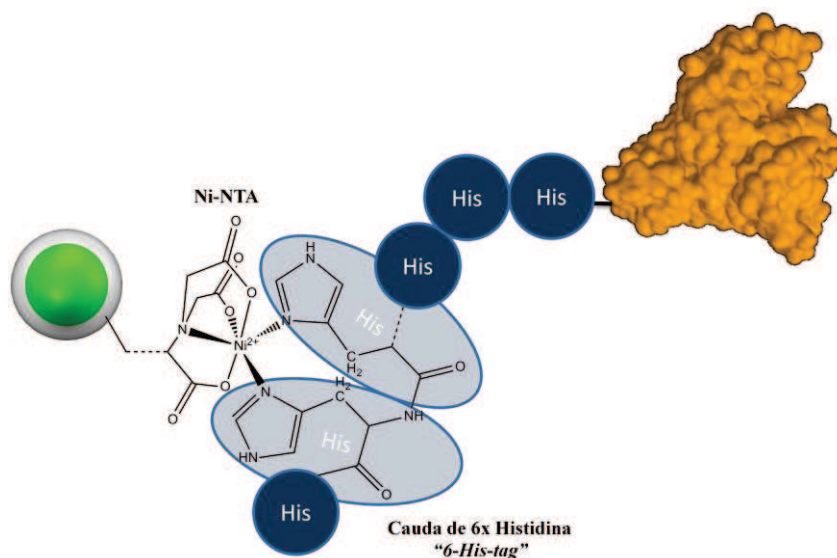


Figura 1.27. Esquema da bioconjugação através de um resíduo de histidina. A ligação à superfície da NP é mediada através de um complexo de coordenação com um catião metálico (em geral, Ni(II) com o grupo acetato de nitrilo, Ni-NTA).

Adsorção não-específica de proteínas

As NPs são incubadas na presença das proteínas que são adsorvidas na superfície das NPs por forças de van der Waals, pontes de hidrogénio, ligações ouro-tiol (por intermédio de resíduos de cisteína) ou por interacção hidrofóbica, geralmente quando o pH do meio se encontra próximo do ponto isoeléctrico das proteínas, de tal forma que a repulsão electrostática é reduzida.

Após adsorção, a proteína pode imobilizar-se irreversivelmente por uma destas forças ou a combinação destas [245]. A proteína pode contactar com a superfície da partícula por desnaturação parcial ou completa [246]. A desnaturação da proteína provoca uma modificação de conformação que poderá revelar a parte interna da proteína, permitindo que ocorra uma maior interacção hidrofóbica e/ou provocar um aumento da área de contacto entre a proteína e NP.

Interacção electrostática

As NPs com carga superficial podem ser acopladas a espécies biológicas e poliméricas com carga oposta [247], ou mesmo a NPs com cargas opostas [248]. Alguns exemplos

óbvios de aplicação biológica são o acoplamento de ADN [249, 250] ou lipossomas de carga negativa com NPs carregadas positivamente [251, 252]. Com o ajuste cuidadoso do pH é possível acoplar uma variedade de proteínas, que podem ser catiónicas, aniónicas ou neutras, à superfície das NPs de carga oposta. A Imunoglobulina G (IgG) é uma espécie catiónica a pH 6 e pode ser imobilizada na superfície de NPs de Au estabilizadas com iões citrato [224].

Aplicações biológicas de NPs

A associação das propriedades singulares de nanomateriais com entidades biológicas é um projecto bastante tentador que poderá permitir não só o desenvolvimento de novas técnicas e dispositivos de diagnóstico e tratamento, mas também um melhor conhecimento fundamental dos processos e mecanismos celulares. A evolução tem optimizado várias estruturas macromoleculares fascinantes com propriedades únicas de reconhecimento, transporte e catálise. A conjugação de NPs com estes biomateriais poderá permitir a transdução electrónica ou óptica de fenómenos biológicos de uma forma fiável, reproduzível, expedita e com elevada sensibilidade. Este aspecto é muito importante, pois permite a utilização de métodos de diagnóstico menos invasivos. De facto, a utilização destas novas nanoestruturas poderá proporcionar novas formas de detectar marcadores específicos de doenças em concentrações reduzidas, em meios biológicos complexos, podendo ser analisados utilizando uma grande variedade de modos de detecção [253].

A aplicação de NPs em técnicas de terapia possui a vantagem da maior parte das nanoestruturas apresentarem dimensões comparáveis a entidades biológicas com elevado poder de reconhecimento, tal como anticorpos, receptores, enzimas e hormonas, o que permite uma aplicação local das NPs.

Embora proliferem os exemplos de aplicações biológicas de NPs na literatura, a sua utilização em aplicações *in vivo* levanta ainda algumas questões relacionadas com a toxicidade destes materiais e possíveis efeitos citotóxicos. As preocupações relacionadas com a utilização de materiais em cuja composição constam elementos considerados

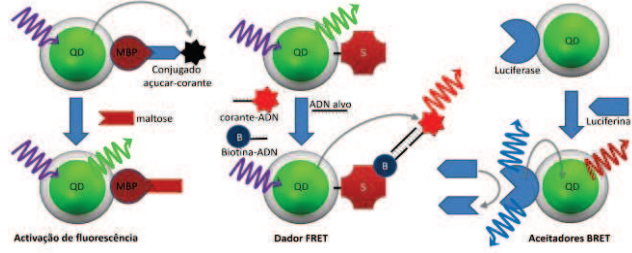
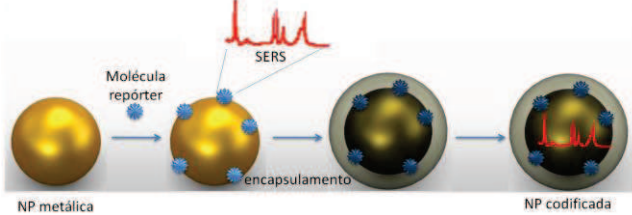
tóxicos (Cd, Pb, Hg, Se, etc.), como por exemplo, em estruturas contendo QDs, prende-se principalmente com a libertação dos iões correspondentes para o meio. No entanto, em diversos estudos realizados em modelos animais não se observaram sinais de toxicidade em períodos de vários meses [254], e os QDs funcionalizados com moléculas hidrófilas não revelaram efeitos adversos em estudos de proliferação celular [254-256]. No entanto, estes estudos não são conclusivos, pois para concentrações superiores de QDs, para além de 5×10^9 partículas por célula, o desenvolvimento embrionário é fortemente afectado [184, 256]. Em outro estudo, ocorre a libertação *in vivo* de iões tóxicos a partir de QDs revestidos com ácido mercaptopropiónico [257].

Para aplicações *in vivo*, a maior preocupação é com a robustez do revestimento superficial. Um revestimento superficial instável pode expor o núcleo dos QDs a fotodegradação por UV ou oxidação e consequente libertação de iões tóxicos, por exemplo, o revestimento de ZnS protege o núcleo de oxidação, mas não de degradação por UV [255, 258]. Existem também algumas preocupações relativamente à toxicidade das moléculas utilizadas para a funcionalização superficial dos QDs [258] e efeitos citotóxicos resultantes da própria natureza do revestimento [257].

Mesmo para materiais considerados inertes, tal como NPs de ouro [259], as questões de biocompatibilidade das NPs têm que ser consideradas. As células expostas a NPs irão incorporar e armazenar as partículas no interior das células em compartimentos perinucleares, isto é, estruturas vesiculares próximas do núcleo da célula [260-262]. Devido à internalização das NPs, as células ou tecidos em contacto com as NPs serão expostos por longos períodos de tempo. Sobre os efeitos citotóxicos [263] é preciso distinguir entre os efeitos relacionados com a natureza do material e efeitos comuns das NPs, que poderão originar uma resposta diferente dependendo da linhagem celular [261, 264], da química de superfície [265], e do tamanho e forma das NPs [266-268].

Nesta secção apresenta-se um resumo das principais aplicações biológicas de NPs e nanocompósitos sumariadas na Tabela 1.4.

Tabela 1.4. Resumo das principais aplicações biológicas de NPs.

Aplicações biológicas de NPs	Aplicações de NPs em diagnóstico	NPs como repórteres	QDs	(ver texto)
			NPs metálicas	(ver texto)
			NPs magnéticas	(ver texto)
			MRI	Agentes de contraste baseados em NPs superparamagnéticas [269-271].
		NPs como sensores	QDs	<p>Sensores mediados pela transferência de energia dos QDs para corantes orgânicos, FRET [272-274].</p> <p>Excitação mediada por reacções bioluminescentes, BRET [275].</p> 
			SPR	(ver texto)
			Supressão de fluorescência	(ver texto)
			SERS	<p>Efeito SERS em NPs de ouro e prata [276, 277]. O SERS permite a detecção e análise da estrutura química em simultâneo de moléculas isoladas [277, 278]. As NPs podem ser funcionalizadas de forma a possuírem uma ligação específica ao analito [279-283].</p> <p>Códigos de barras baseados em SERS [284, 285]</p> 
				Mapeamento local de pH em meios celulares [286].
			Marcação por relaxação	Variação do tempo de relaxação Browniana [287, 288].
	Aplicações de NPs em tratamento	Libertação controlada de fármacos		Abertura fotoinduzida de cápsulas poliméricas contendo NPs de Au [289-291].
		hipertermia		Excitação fototérmica de NPs de ouro [292-296].
				Excitação de NPs magnéticas com um campo magnético oscilatório (RF). Em partículas ferromagnéticas, o calor é gerado pela oscilação repetitiva do ciclo de histerese magnética [297, 298]. Em NPs superparamagnéticas, o calor é gerado pela relaxação magnética, por relaxação Browniana e/ou por relaxação de Néel [299, 300].

Aplicações de NPs em diagnóstico

A marcação imunológica é uma prática tradicional anterior ao aparecimento da nanobiotecnologia, mas que tem beneficiado do desenvolvimento de diversas metodologias neste campo. A ideia da marcação imunológica consiste na rotulagem de células ou compartimentos celulares de interesse, com biomarcadores específicos, como por exemplo, anticorpos, receptores, oligonucleotídeos ou hormonas. Sem marcação, as moléculas ou compartimentos celulares de interesse, não podem ser convenientemente visualizadas, devido à falta de contraste relativamente às outras moléculas ou estruturas da célula. As NPs conjugadas com os biomarcadores específicos, como por exemplo anticorpos, guiadas pelo mecanismo de reconhecimento molecular, vão ligar-se às moléculas (antígenos) ou regiões-alvo que contenham os antígenos, fornecendo o contraste necessário para detectar a sua localização relativa.

Neste conjunto de aplicações, as NPs são utilizadas como repórteres passivos, isto é, não ocorre alteração das propriedades das NPs necessárias para ocorrer uma leitura.

NPs como repórteres

QDs

Os trabalhos pioneiros dos grupos de Shuming Nie e de Paul Alivisatos publicados na mesma edição da revista Science [219, 301] marcaram o início da utilização de QDs como marcadores ópticos de entidades biológicas, e desde então, a utilização de QDs em diversas aplicações biológicas tem aumentado exponencialmente. Os QDs têm sido usados como marcadores ópticos numa grande variedade de análises de componentes biológicos, como por exemplo, marcação imunológica, ensaios de motilidade celular, detecção de hibridização de ADN e marcadores de células [255]. Os métodos de detecção dos QDs são numerosos e incluem microscopia confocal, de reflexão total interna de fluorescência (*Total internal reflection fluorescence microscopy*, TIRFM), e de fluorescência [256].

Para estas aplicações vários corantes orgânicos têm sido utilizados com bons resultados, no entanto, os QDs apresentam algumas propriedades vantajosas [302]. Na Figura 1.28 estão representados os espectros de absorção e emissão de um corante orgânico comumente utilizado em microscopia de fluorescência, o FITC (isotiocianato de fluoresceína) e de QDs, assim como as dimensões comparativas destes materiais.

Em comparação com os corantes orgânicos, os QDs apresentam um perfil de excitação largo, isto é, a excitação é possível para quaisquer valores de energia superiores ao valor máximo de absorção associado à primeira transição electrónica do excitão (pico excitónico) e estende-se até ao ultravioleta. O perfil de absorção largo permite a escolha adequada do comprimento de onda de excitação de forma a permitir uma boa separação entre perfis de excitação e emissão.

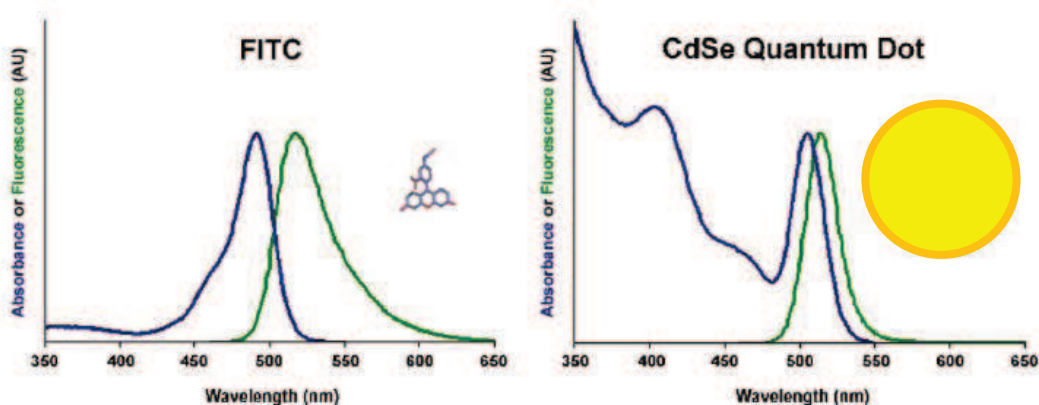


Figura 1.28. Comparação entre os espectros de absorvância e de fluorescência de um corante orgânico (isotiocianato de fluoresceína FITC, à esquerda) e de QDs de selenieto de cádmio (CdSe, à direita) com comprimentos de onda de emissão idênticos. O tamanho relativo destes dois materiais é também ilustrado [303].

O perfil de emissão dos QDs é relativamente estreito e é simétrico comparativamente ao espectro de absorção (Figura 1.28). A largura das bandas de emissão é determinada principalmente pela distribuição de tamanhos da amostra de QDs. A “cor” da emissão dos QDs pode ser afinada, quer pelo tipo de material que é utilizado quer pelo tamanho das NPs. Desta forma é possível ter uma grande variedade de cores, correndo o espectro óptico, desde o ultravioleta até ao infravermelho próximo (Figuras 1.9 e 1.10).

A possibilidade de utilizar simultaneamente QDs com diferentes “cores” de emissão, perfeitamente distinguíveis, sob excitação a um único comprimento de onda, pode permitir a utilização de métodos de marcação múltipla com elevada sensibilidade. A marcação de múltiplos organelos celulares com diferentes QDs permite a obtenção de imagens multicoloridas em que é possível distinguir e identificar as diversas partes da célula (Figura 1.29) [304].

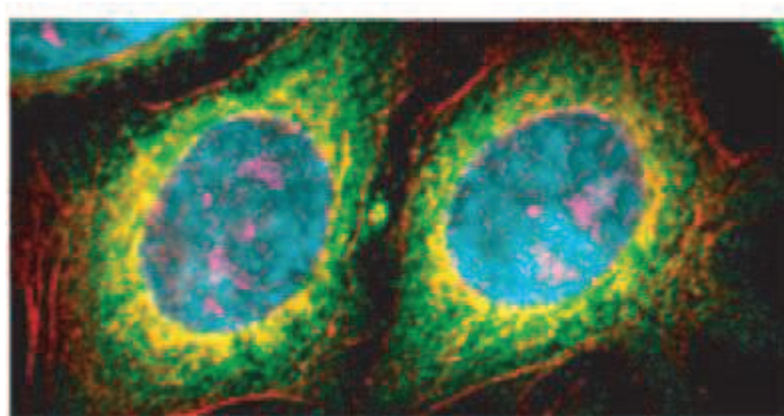


Figura 1.29. Imagem de células epiteliais humanas construída a partir de imagens individuais utilizando QDs com cinco cores diferentes: QDs com emissão a 655 nm (Cyan) marcam o núcleo, QDs 605 nm (magenta) marcam a proteína Ki-67, QDs 525 nm (laranja) marcam as mitocôndrias, QDs 565nm marcam os microtúbulos e QDs 705 nm (vermelho) marcam os filamentos de actina [304].

No entanto, a principal vantagem dos QDs relativamente aos corantes orgânicos resulta da sua resistência superior à fotodegradação por longos períodos de tempo (de minutos a horas), o que garante a aquisição de imagens vivas e com bom contraste [305]. Na Figura 1.30 estão representadas células de fibroblastos de ratos (3T3) cujos núcleos e microtúbulos foram marcados alternadamente com corante orgânico AlexaFluor 488 (verde) e com QDs (com emissão a 630 nm, de cor vermelha) conjugados com Estreptavidina. Após uma exposição contínua de 180 segundos verifica-se que o corante orgânico degrada-se completamente enquanto os QDs não apresentam uma perda significativa de intensidade [305].

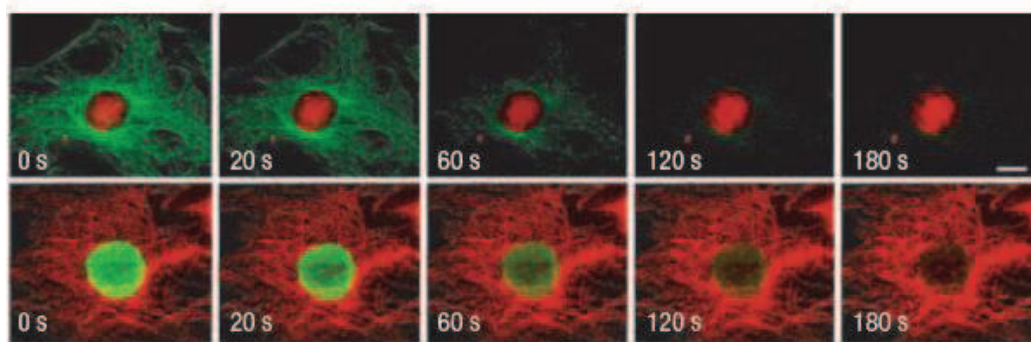


Figura 1.30. Comparação da estabilidade dos QDs com um corante orgânico sujeito a excitação óptica. Na linha superior os antígenos nucleares foram marcados com QDs (com emissão a 630nm, de cor vermelha) conjugados com Estreptavidina e os microtubulos foram marcados com um corante orgânico, AlexaFluor 488 (verde) simultaneamente numa célula 3T3. Na linha inferior os microtubulos foram marcados com QDs-Estreptavidina (630nm, vermelho) e os antígenos nucleares com cor verde do corante Alexa 488. O tempo de exposição representado é em segundos [305].

Esta fotoestabilidade acrescida é especialmente útil para a aquisição de imagens de secções ópticas em imagens tridimensionais, onde a fotodegradação dos corantes é um problema durante o tempo de aquisição de sucessivas secções, o que compromete a reconstrução correcta da estrutura 3D. A vantagem do uso de QDs em imagens de microscopia confocal 3D de alta resolução foi ilustrada para o estudo da distribuição de uma proteína da membrana celular de eritrócitos, envolvida no transporte de aniões (proteína band3) [306, 307] e de *p*-glicoproteínas, típicas de mutações multirresistentes existentes na membrana de células de adenocarcinomas mamários [308].

As propriedades superiores de fotoestabilidade e a possibilidade de obter simultaneamente a emissão de diferentes “cores” (utilizando por exemplo, QDs com diferentes tamanhos), permitiram o desenvolvimento de métodos de detecção por marcação multicolor em ensaios biológicos. O código multicolor pode ser obtido por encapsulamento de QDs de diferentes tamanhos em microesferas poliméricas, controlando as razões entre os diferentes tamanhos. Esta metodologia encontra paralelo no sistema de código de barras a uma escala submicrométrica [35, 309]. O número de combinações possíveis é extraordinário: utilizando por exemplo, 10 níveis de intensidade (utilizando diferentes concentrações) e 6 cores diferentes de QDs, é possível obter uma livraria de um milhão de códigos (Figura 1.31) [35].

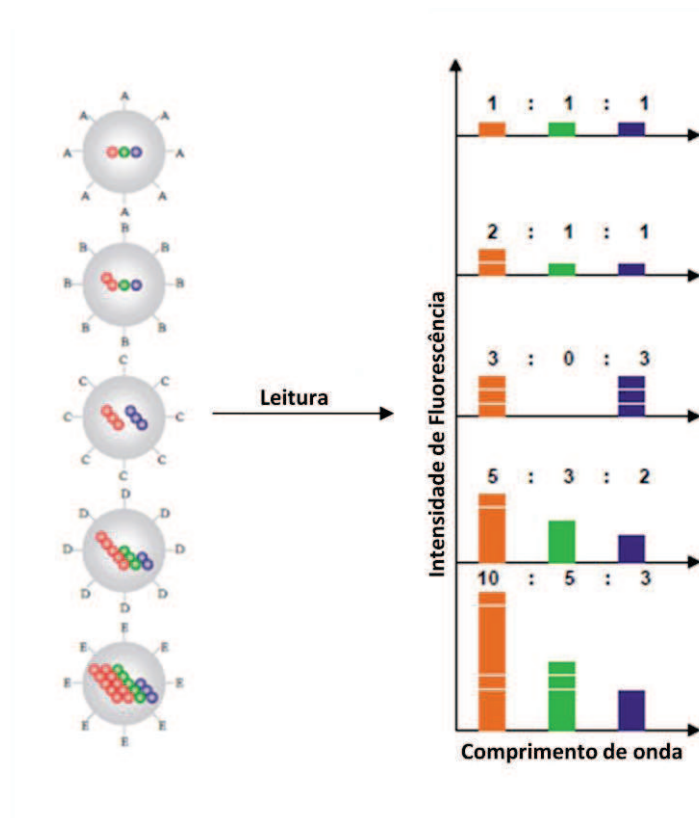


Figura 1.31. Esquema representativo da construção da livreria de códigos de QDs, utilizando 3 cores e diferentes concentrações de QDs.

As técnicas de espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo são um conjunto de técnicas de marcação biológica que começam a ganhar importância. Os corantes orgânicos apresentam tempos de meia-vida de fluorescência tipicamente na ordem de poucos *ns* e são geralmente muito curtos para uma discriminação temporal eficiente [302]. No entanto, a cinética de decaimento mono-exponencial permite uma identificação simples do corante em medidas de tempos de meia vida de fluorescência. No caso dos QDs, os tempos de meia vida comparativamente mais longos (tipicamente de 5 a centenas de *ns*) permite uma eficaz discriminação temporal do sinal do fundo de auto-fluorescência celular e da luz de excitação, aumentando desta forma a sensibilidade [310, 311]. No entanto, o comportamento intrincado dependente do tamanho, superfície, comprimento de onda e do tempo, origina uma cinética de decaimento bi- ou multi-exponencial para os QDs [312, 313], o que poderá dificultar a identificação das espécies por medidas temporais de fluorescência. O potencial da utilização de QDs para a aquisição múltipla de tempos de meia vida foi demonstrado [314], e recentemente

aplicado em microscopia de fluorescência resolvida no tempo, FLIM (*fluorescence lifetime imaging microscopy*) para a detecção de reacções de hibridização de ADN [315].

NPs metálicas

As primeiras aplicações tecnológicas de NPs de Au foram principalmente na sua utilização como marcadores. As NPs são dirigidas e enriquecem a região de interesse fornecendo um contraste de observação que permite a visualização desta região. As NPs de Au são um agente de contraste muito atraente pois permite a sua visualização com uma grande variedade de técnicas diferentes. As técnicas de detecção mais comuns são baseadas na interacção entre as NPs de ouro e a luz [316].

As NPs maiores do que cerca de 20 nm podem ser observadas directamente com microscopia óptica em contraste de fase ou no modo de contraste por interferência diferencial (DIC, *differential interference contrast*) [317]. Em microscopia de campo-escuro (*dark field microscopy*) apenas a luz dispersa pelas NPs pode ser detectada por microscopia óptica. Como a cor da luz dispersa pelas NPs depende dos seus tamanhos e formas, diferentes NPs podem ser usadas para marcação com cores diferentes [318, 319].

A absorção de luz pelas NPs de Au origina o aquecimento das NPs e consequentemente do meio circundante. Os electrões excitados relaxam, transferindo parte da energia para a rede cristalina na forma de calor, pelo que a absorção da luz leva ao aquecimento localizado das NPs de ouro. Este fenómeno local pode também ser aproveitado como método de visualização. O registo fototérmico é possível por microscopia DIC que permite a detecção de flutuações de densidade (ou seja, as variações locais do índice de refração) do ambiente líquido ao redor das partículas [320, 321]. Outra possibilidade é a imagiologia fotoacústica que aproveita a expansão dos líquidos devido ao calor. Um pulso de calor local, devido à absorção da luz leva à expansão do líquido do meio circundante e, portanto, à criação de uma onda sonora que pode ser detectada por um microfone [322, 323].

Os métodos acima mencionados envolvendo fotoexcitação (contraste de fase/microscopia de contraste de interferência, microscopia de campo escuro, imagem

fototérmica e fotoacústica) fornecem uma sensibilidade suficiente para permitir a detecção ao nível das partículas individuais.

Além da interacção com a luz visível, a interacção com outras gamas de radiação electromagnética, como feixes de electrões e de raios-X podem também ser usados para a visualização de NPs de ouro. Devido ao seu elevado peso atómico, as NPs de Au fornecem um alto contraste em microscopia electrónica de transmissão (TEM) [324]. Para este caso, a resolução lateral é melhor quando comparada com os métodos de fluorescência. As NPs de Au dispersam também raios-X de forma eficiente e assim fornecem um contraste em imagiologia de raios-X [325]. Em comparação com os métodos de marcação óptica por fluorescência, as NPs de Au apresentam a vantagem de não sofrerem fotodegradação, que é uma grande limitação destes métodos.

NPs magnéticas

Em investigação médica, a separação de entidades biológicas (ADN, proteínas, e células), do seu meio nativo é por vezes fundamental para a sua análise. Isto ocorre devido às dificuldades que podem advir da concentração reduzida do analito e/ou pela interferência do meio. As técnicas de separação magnética apresentam algumas vantagens significativas comparadas com os métodos tradicionais de separação [326]. Os procedimentos são simples, com poucas etapas, todo o processo pode ser efectuado no mesmo tubo, sem ser necessário recorrer a sistemas dispendiosos de cromatografia líquida, filtragem, centrifugação ou outros equipamentos.

Os coloides superparamagnéticos são ideais para estas aplicações devido à possibilidade de “ligar” ou “desligar” a magnetização, pela aplicação de um campo magnético externo, permitindo o transporte dos biomateriais utilizando o campo, e a redispersão da amostra na ausência deste.

Para a separação magnética de entidades biológicas, as NPs são funcionalizadas com receptores específicos do analito que se pretende separar. Por exemplo, utilizando NPs funcionalizadas com anticorpos é possível separar células tumorais [327-329], eritrócitos [330], vesículas de Golgi [331], bactérias [332] e proteínas [223]. Outra possibilidade é a

utilização de NPs de FePt funcionalizadas com um antibiótico (vancomicina) que reconhece péptidos terminais na superfície de bactérias, permitindo a sua separação [225, 333, 334], ou o acoplamento utilizando resíduos de histidina, para a separação de proteínas [242, 243, 335].

A miniaturização dos processos de manipulação magnética, separação, transporte e detecção de NPs magnéticas em sistemas microfluídicos, ou *lab-on-a-chip*, tem despertado grande interesse. Estes sistemas limitam bastante o consumo de amostra e reagentes e a associação de NPs magnéticas fornece um substrato quimicamente activo de elevada área superficial que poderá permitir integrar todas as funções, desde o tratamento da amostra até à leitura, num sistema extremamente miniaturizado [336].

Adicionalmente às aplicações em métodos de separação, as NPs magnéticas podem ser utilizadas como marcadores para detecção de entidades biológicas. A este respeito as NPs magnéticas apresentam algumas vantagens; as suas propriedades magnéticas são estáveis ao longo do tempo e raramente afectadas por reacções químicas ou sujeitas a fotodegradação (que é um problema comum da marcação por fluorescência óptica). Mais importante é a inexistência de um fundo magnético em amostras biológicas (que são fracamente diamagnéticas) e o campo magnético não é atenuado por soluções aquosas, fluidos biológicos ou tecidos, eliminando interferências ou sinais de fundo [337, 338].

Uma série de dispositivos de detecção, muito sensíveis ao campo magnético têm sido desenvolvidos nos últimos anos, tal como sensores baseados no fenómeno de Magneto resistência gigante (MRG) [339]. Os sensores magnéticos de "válvulas de spin" (*spin-valve*) [340, 341] permitem a detecção de campos magnéticos extremamente fracos, como por exemplo, o campo magnético gerado pela magnetização de uma única partícula magnética. No entanto, estes métodos estão limitados à detecção de NPs submicrométricas, apesar de ser teoricamente possível detectar NPs com diâmetros inferiores a 100 nm, desde que seja possível reduzir na mesma escala, todos os componentes do sistema [342, 343].

Estes dispositivos permitem detectar NPs magnéticas revestidas com dextrano e funcionalizadas com Estraptavidina, com diâmetro médio de 250nm (Nanomag®-D, Micromod) para a detecção de fragmentos de ADN biotinalizados [344].

Um dispositivo de "válvulas de spin" consiste basicamente em dois filmes ferromagnéticos separados por uma camada de material não magnético condutor. Na ausência de campo magnético, o acoplamento das camadas ferromagnéticas adjacentes origina uma magnetização anti-paralela entre as capas. Esta disposição apresenta uma resistência eléctrica elevada. Quando um campo magnético externo é aplicado, as magnetizações respectivas das camadas alinham-se com o campo externo e a resistência do conjunto cai de forma acentuada. Para além dos sensores MRG, a detecção de partículas magnéticas individuais foi demonstrada utilizando sensores Hall miniaturizados [345, 346].

NPs como sensores

Adicionalmente ao uso de NPs (ou nanoestruturas) como repórteres passivos, estas NPs e nanoestruturas podem também ser utilizadas em aplicações em que ocorre uma variação detectável das propriedades das NPs, isto é, uma utilização activa das NPs, como sensores. O objectivo do sensor é registar especificamente a presença das moléculas do analito e permitir (quando possível) uma leitura da sua concentração.

SPR

A frequência plasmónica de superfície é uma característica intrínseca bastante fiável das NPs metálicas. A variação desta frequência pode ser utilizada para o desenvolvimento de sensores. A ligação de moléculas à superfície pode, por si só, originar uma variação da frequência plasmónica, que é detectável pela luz dispersa em microscopia de contraste de fase [347]. A frequência de ressonância plasmónica é ainda amplamente dependente da distância média entre NPs [348]. Este efeito de acoplamento plasmónico tem sido utilizado para a detecção colorimétrica de analitos e é o exemplo mais significativo de sensores baseados em NPs de ouro [349-351]. Este tipo de sensor foi inicialmente desenvolvido para a detecção de fragmentos de ADN. As NPs de ouro são conjugadas com

oligonucleotídeos complementares da sequência alvo que se pretende detectar. Na ausência da sequência alvo, as NPs de ouro encontram-se dispersas no meio e a solução coloidal apresenta a cor vermelho-rubi característica. Na presença da sequência-alvo, as NPs de ouro ligam-se ao alvo pela hibridação das sequências complementares de ADN. Como cada NP de ouro possui vários oligonucleotídeos na superfície, a reacção de hibridação resulta na formação de pequenos agregados de NPs de Au, o que provoca uma variação na frequência de ressonância plasmónica e a solução coloidal apresenta uma cor azul-violeta. Este conceito foi aperfeiçoado de tal forma que uma detecção quantitativa de sequências de ADN em concentrações muito baixas é possível [352]. O mesmo conceito também pode ser aplicado a outros analitos. As NPs de ouro podem ser ligadas entre si por sequências de ADN numa configuração que garanta que a distância média inter-partículas seja suficiente para impedir o acoplamento plasmónico. A escolha de sequências de ADN que alteram a sua conformação específica após a ligação a metais [353] ou a proteínas [354, 355] que se pretendam analisar, provoca uma diminuição da distância inter-partícula e portanto, uma variação de cor do coloide de vermelho para violeta-azul.

Supressão de fluorescência

A fluorescência de muitos fluoróforos é suprimida quando estão na proximidade de superfícies metálicas [356, 357]. Este efeito pode ser usado para o desenvolvimento de diferentes tipos de sensores. O primeiro baseia-se no deslocamento competitivo [358]. Para a detecção quantitativa de uma determinada substância, as NPs de metal são previamente conjugadas com ligandos modificados com fluoróforos. Como os fluoróforos estão desta forma conjugados à superfície das NPs metálicas, a fluorescência é suprimida. Após a adição das NPs funcionalizadas com fluoróforos à solução contendo o analito, este irá competir com os ligandos na superfície das NPs, deslocando-os para a solução. Os ligandos modificados com fluoróforos libertados para a solução recuperam a fluorescência que é então detectada. Uma variação deste conceito envolve o uso de NPs de Au como supressores de fluorescência de QDs [359].

Um outro esquema de detecção funciona de forma ligeiramente diferente. Neste caso recorre-se a uma molécula que muda a sua conformação aquando da sua ligação ao analito. Esta molécula é usada como um espaçador entre o fluoróforo e NP de ouro. Na ausência da substância a analisar a molécula espaçadora encontra-se distendida e não há supressão da fluorescência do fluoróforo. Por outro lado, quando as moléculas do analito se ligam ao espaçador, este muda a sua conformação de tal forma que o fluoróforo e NP se aproximam, o que resulta na supressão da fluorescência. O mesmo princípio pode ser usado de maneira oposta quando a ligação do analito provoca a distensão do espaçador [360-362].

O mecanismo de supressão ocorre para um contacto muito próximo entre a superfície metálica e o fluoróforo (tipicamente na ordem de 0 - 5 nm). No entanto, para distâncias ligeiramente superiores (mais de 5 nm), ocorre um forte incremento da intensidade de fluorescência do agente fluoróforo [363]. Este tipo de interacção tem sido amplamente estudado para futuras aplicações médicas [364].

1.6. Enquadramento e objectivos deste trabalho

Os nanomateriais apresentam propriedades físicas e químicas singulares que os distinguem dos seus pares macrocristalinos. Por outro lado, os sistemas biológicos apresentam uma organização sistemática de estruturas e processos a uma escala nanométrica exemplar. O desenvolvimento de uma tecnologia a uma escala capaz de interagir com as estruturas biológicas tem sido nos últimos anos significativo, com a promessa do desenvolvimento de novas técnicas e dispositivos de diagnóstico e tratamento. Torna-se relevante o aperfeiçoamento de métodos de preparação de nanoestruturas funcionais, em que nanomateriais com propriedades únicas possam ser associados a estruturas biológicas. É neste contexto que surge esta tese. Assim, o objectivo principal da tese foi o desenvolvimento de NPs compósitas apresentando propriedades distintas consoante o tipo de nanocargas utilizadas. Deste modo optou-se por nanoestruturas compósitas obtidas por diferentes metodologias de modificação superficial.

No **Capítulo 2** é reportada a preparação de compósitos utilizando miniemulsões de poli-estireno e poli-acrilato de butilo contendo NPs de ouro revestidas com moléculas orgânicas. As propriedades ópticas destas estruturas híbridas são dominadas por efeitos plasmónicos e dependem de uma forma crítica na morfologia do nanocompósito final. Em particular, demonstra-se aqui a possibilidade de ajustar a resposta óptica, na região do visível do espectro, através do arranjo das NPs na matriz polimérica, e consequentemente o acoplamento plasmónico, utilizando NPs resultantes da mesma síntese. Na generalidade, é reportada aqui uma estratégia alternativa para alterar a resposta óptica de nanocompósitos através do controlo da morfologia do compósito final em alternativa a mais comum estratégia de modificar as características morfológicas das partículas metálicas utilizadas.

No **Capítulo 3** apresentam-se os resultados da preparação de vários compósitos poliméricos com função magnética. A síntese e propriedades magnéticas de NPs de ligas metálicas de cobalto-platina (CoPt_3) e ferro-platina (FePt_3), assim como de óxidos de ferro (magnetite Fe_3O_4 e maguemite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e respectivos nanocompósitos poliméricos. O potencial destes nanocompositos para bioaplicações *in vitro* específicas é também discutido.

O **Capítulo 4** dedica-se ao estudo de nanoestruturas de QDs em matrizes poliméricas e as suas propriedades ópticas. A incorporação de QDs em matrizes poliméricas é de particular interesse, nomeadamente devido ao comportamento óptico do nanocompósito final parecer estar dependente do tipo de polímero utilizado. As propriedades ópticas dos nanocompósitos foram estudadas sistematicamente por medidas de fotoluminescência. Os nanocompósitos apresentam propriedades de fotoluminescência interessantes com potenciais aplicações biológicas em diagnóstico *in vitro*, funcionado com sondas biológicas luminescentes.

No **Capítulo 5** são discutidas as conclusões gerais assim como se apresentam perspectivas possíveis de trabalho futuro no contexto deste trabalho.

1.7. Referências

1. McWilliams, A., *Nanotechnology: A Realistic Market Assessment*. Report Code: NAN031D. July 2010. www.bccresearch.com
2. A transcrição da famosa palestra de Richard Feynman foi inicialmente publicada no número de Fevereiro de 1960 do "Caltech's Engineering and Science" e posteriormente disponibilizada online pelo Caltech (<http://www.zyvex.com/nanotech/feynman.html>). [2010].
3. Drexler, K. E., *Molecular engineering: An approach to the development of general capabilities for molecular manipulation*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1981. **78**(9): p. 5275-5278.
4. Drexler, K. E., *Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology*. 1986, New York: Anchor Books.
5. Toumey, C., *Apostolic Succession: Does nanotechnology descend from Richard Feynman's 1959 talk?* Engineering & Science, 2005. **LXVIII**(1/2): p. 16-23.
6. "Ernst Ruska - Nobel Lecture". Nobelprize.org. http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1986/ruska-lecture.html. [2 Jun 2010].
7. http://www-03.ibm.com/ibm/history/exhibits/vintage/vintage_technology.html. [Junho 2010].
8. Eigler, D. M. and Schweizer, E. K., *Positioning Single Atoms with a Scanning Tunneling Microscope*. Nature, 1990. **344**(6266): p. 524-526.
9. Rossetti, R., Ellison, J. L., Gibson, J. M., and Brus, L. E., *Size Effects in the Excited Electronic States of Small Colloidal Cds Crystallites*. Journal of Chemical Physics, 1984. **80**(9): p. 4464-4469.
10. Ekimov, A. I. and Onushchenko, A. A., *Quantum Size Effect in the Optical-Spectra of Semiconductor Micro-Crystals*. Soviet Physics Semiconductors-Ussr, 1982. **16**(7): p. 775-778.
11. Ekimov, A. I., Efros, A. L., and Onushchenko, A. A., *Quantum Size Effect in Semiconductor Microcrystals*. Solid State Communications, 1985. **56**(11): p. 921-924.
12. Efros, A. L. and Efros, A. L., *Interband Absorption of Light in a Semiconductor Sphere*. Soviet Physics Semiconductors-Ussr, 1982. **16**(7): p. 772-775.
13. Rossetti, R. and Brus, L., *Electron-Hole Recombination Emission as a Probe of Surface-Chemistry in Aqueous Cds Colloids*. Journal of Physical Chemistry, 1982. **86**(23): p. 4470-4472.
14. Rao, C. N. R., Muller, A., and Cheetham, A. K., *The Chemistry of Nanomaterials*. 2003, Weinheim: Wiley-VCH.
15. Sergeev, G. B., *Nanochemistry*. 2006: Elsevier.
16. Goodsell, D. S., *Biotechnology : lessons from nature*. 2004, Hoboken, New Jersey: Wiley-Liss, Inc.
17. Bell, T. E. *Understanding risk assessment of Nanotechnology*. 2007 [Available from: http://www.nano.gov/Understanding_Risk_Assessment.pdf].
18. Müller, A., Bögge, H., and Henry, M., *Coordination chemistry under confined conditions: a simplified illustrative view*. Comptes Rendus Chimie, 2005. **8**(1): p. 47-56.

19. Zimmer, M., *GFP: from jellyfish to the Nobel prize and beyond*. Chemical Society Reviews, 2009. **38**(10): p. 2823-2832.
20. Mahpour, A. *Immunoglobulin G*. [cited 2010; IgG is a protein whose work is immunity against variety of foreign molecules and structure]. Available from: <http://www.thecellbiology.com/molpaper/default.aspx?id=2>.
21. *MEMS gear photomicrograph*. 2010 ['Courtesy of Sandia National Laboratories, SUMMIT(TM) Technologies']. Available from: <http://mems.sandia.gov/scripts/images.asp>.
22. Packan, P., et al., *High Performance 32nm Logic Technology Featuring 2(nd) Generation High-k plus Metal Gate Transistors*. 2009 IEEE International Electron Devices Meeting, 2009: p. 611-614.
23. Morton, E., *Deadly flu bug is invincible*, in *The Sun*. 2009, News Group Newspapers Ltd.
24. *2009 H1N1 Flu (Swine Flu) & the Safety of Plasma-Derived Products*. [Available from: <http://www.cslbehrling.com/s1/cs/enco/1236380127081/content/1236380126979/content.htm>].
25. Nikas, Y., *Early human embryo*, C.R. B0001664B, Editor, Wellcome Images.
26. McMaster, T. J., *Scanning probe image of human chromosome 1*, C.R. B0001890C, Editor, Wellcome Images.
27. Krishnan, A., Dujardin, E., Ebbesen, T. W., Yianilos, P. N., and Treacy, M. M. J., *Young's modulus of single-walled nanotubes*. Physical Review B, 1998. **58**(20): p. 14013-14019.
28. [Magnetic AFM image of a 1GB Jaz drive (similar to a hard drive) showing the individual bits that are encoded on it magnetically]. Available from: <http://www.stcloudstate.edu/cmia/gallery.asp#images/gallery/AFM-Strutted-Process-a.jpg>.
29. *Core Concepts in Supramolecular Chemistry and Nanochemistry*, ed. J.W. Steed, D.R. Turner, and K.J. Wallace. 2007, Chichester, West Sussex, England: John Wiley & Sons.
30. Klabunde, K. J., *Introduction to the Nanoworld*, in *Nanoscale Materials in Chemistry*, K.J. Klabunde, Editor. 2001, Wiley-Interscience.
31. Schmid, G., *Metals*, in *Nanoscale Materials in Chemistry*, K.J. Klabunde, Editor. 2001, Wiley-Interscience.
32. W. J. Parak, L. Manna, F. C. Simmel, D. Gerion, and Alivisatos, P., *Quantum Dots*, in *Nanoparticles: From Theory to Application*, G. Schmid, Editor. 2004, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.: Weinheim. p. 4-49.
33. Baláz, P., *Mechanochemistry in Nanoscience and Minerals Engineering*. 2008, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
34. Fahlman, B. D., *Materials Chemistry*. 2007, Dordrecht, The Netherlands.: Springer.
35. Han, M. Y., Gao, X. H., Su, J. Z., and Nie, S., *Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules*. Nature Biotechnology, 2001. **19**(7): p. 631-635.

36. Chan, W. C. W., Maxwell, D. J., Gao, X. H., Bailey, R. E., Han, M. Y., and Nie, S. M., *Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging*. Current Opinion in Biotechnology, 2002. **13**(1): p. 40-46.
37. Zrazhevskiy, P. and Gao, X. H., *Multifunctional quantum dots for personalized medicine*. Nano Today, 2009. **4**(5): p. 414-428.
38. Pokrant, S. and Whaley, K. B., *Tight-binding studies of surface effects on electronic structure of CdSe nanocrystals: the role of organic ligands, surface reconstruction, and inorganic capping shells*. European Physical Journal D, 1999. **6**(2): p. 255-267.
39. Underwood, D. F., Kippeny, T., and Rosenthal, S. J., *Ultrafast carrier dynamics in CdSe nanocrystals determined by femtosecond fluorescence upconversion spectroscopy*. Journal of Physical Chemistry B, 2001. **105**(2): p. 436-443.
40. Smith, A. M. and Nie, S. M., *Semiconductor Nanocrystals: Structure, Properties, and Band Gap Engineering*. Accounts of Chemical Research, 2010. **43**(2): p. 190-200.
41. Hines, M. A. and Guyot-Sionnest, P., *Synthesis and characterization of strongly luminescing ZnS-Capped CdSe nanocrystals*. Journal of Physical Chemistry, 1996. **100**(2): p. 468-471.
42. Dabbousi, B. O., et al., *(CdSe)ZnS core-shell quantum dots: Synthesis and characterization of a size series of highly luminescent nanocrystallites*. Journal of Physical Chemistry B, 1997. **101**(46): p. 9463-9475.
43. McBride, J., Treadway, J., Feldman, L. C., Pennycook, S. J., and Rosenthal, S. J., *Structural basis for near unity quantum yield core/shell nanostructures*. Nano Letters, 2006. **6**(7): p. 1496-1501.
44. Bouroushian, M., *Electrochemistry of the Chalcogens*, in *Electrochemistry of Metal Chalcogenides*. 2010, Springer Berlin Heidelberg. p. 57-75.
45. Ghosh, S. K. and Pal, T., *Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles: From Theory to Applications*. Chemical Reviews, 2007. **107**: p. 4797-4862.
46. Faraday, M., *Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light*. Philos. Trans. Royal Soc. London, 1857. **147**: p. 145-181.
47. Thompson, D., *Michael Faraday's Recognition of Ruby Gold: the Birth of Modern Nanotechnology*. Gold Bulletin, 2007. **40**(4): p. 3.
48. Turkevich, J., *Colloidal Gold. Part I*. Gold Bulletin, 1985. **18**(3): p. 86-91.
49. Edwards, P. P. and Thomas, J. M., *Gold in a Metallic Divided State—From Faraday to Present-Day Nanoscience*. Angew. Chem. Int. Ed., 2007. **46**: p. 7.
50. Turkevich, J., Stevenson, P. C., and Hillier, J., *A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold*. Discussions of the Faraday Society, 1951(11): p. 55-75.
51. Turkevich, J., *Colloidal Gold. Part II*. Gold Bulletin, 1985. **18**(4): p. 125-131.
52. Mie, G., Ann. Phys. (Leipzig), 1908. **25**: p. 377.
53. Liz-Marzán, L. M., *Nanometals formation and color*. Materials Today, 2004: p. 26-31.
54. Liz-Marzan, L. M., *Tailoring surface plasmons through the morphology and assembly of metal nanoparticles*. Langmuir, 2006. **22**(1): p. 32-41.
55. MiePlot v4.1. A computer program for scattering of light from a sphere using Mie theory & the Debye series: Philip Laven.

56. Underwood, S. and Mulvaney, P., *Effect of the Solution Refractive Index on the Color of Gold Colloids*. Langmuir, 1994. **10**: p. 3427-3430.
57. Liz-Marzán, L. M., Giersig, M., and Mulvaney, P., *Synthesis of Nanosized Gold-Silica Core-Shell Particles*. Langmuir, 1996. **12**: p. 4329-4335.
58. Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., and Schatz, G. C., *The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**: p. 668-677.
59. Jiang, G., et al., *Signal Enhancement and Tuning of Surface Plasmon Resonance in Au Nanoparticle/Polyelectrolyte Ultrathin Films*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**: p. 18687-18694.
60. Ung, T., Liz-Marzán, L. M., and Mulvaney, P., *Gold nanoparticle thin films*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2002. **202**: p. 119- 126.
61. Wei, Q.-H., Su, K.-H., Durant, S., and Zhang, X., *Plasmon Resonance of Finite One-Dimensional Au Nanoparticle Chains*. Nano Letters, 2004. **4**: p. 1067-1071.
62. Jain, P. K., Qian, W., and El-sayed, M. A., *Ultrafast Electron Relaxation Dynamics in Coupled Metal Nanoparticles in Aggregates*. J. Phys. Chem. B, 2006. **110**: p. 136-142.
63. Sorensen, C. M., *Magnetism*, in *Nanoscale Materials in Chemistry*, K.J. Klabunde, Editor. 2001, John Wiley & Sons, Inc. p. 162.221.
64. Krishnan, K. M., *Biomedical Nanomagnetism: A Spin Through Possibilities in Imaging, Diagnostics, and Therapy*. Magnetism, IEEE Transactions on, 2010. **46**(7): p. 2523-2558.
65. Leslie-Pelecky, D. L. and Rieke, R. D., *Magnetic properties of nanostructured materials*. Chemistry of Materials, 1996. **8**(8): p. 1770-1783.
66. Boistelle, R. and Astier, J. P., *Crystallization Mechanisms in Solution*. Journal of Crystal Growth, 1988. **90**(1-3): p. 14-30.
67. Nancollas, G. H., *In Vitro studies of calcium phosphate crystallization*, in *Biomaterialization: chemical and biochemical perspectives*, S. Mann, J. Webb, and R.J.P. Williams, Editors. 1989, VCH: Weinheim. p. 157-185.
68. Kashchiev, D. and van Rosmalen, G. M., *Review: Nucleation in solutions revisited*. Crystal Research and Technology, 2003. **38**(7-8): p. 555-574.
69. Spanhel, L. and Anderson, M. A., *Semiconductor Clusters in the Sol-Gel Process - Quantized Aggregation, Gelation, and Crystal-Growth in Concentrated ZnO Colloids*. Journal of the American Chemical Society, 1991. **113**(8): p. 2826-2833.
70. Vossmeier, T., et al., *Cds Nanoclusters - Synthesis, Characterization, Size-Dependent Oscillator Strength, Temperature Shift of the Excitonic-Transition Energy, and Reversible Absorbency Shift*. Journal of Physical Chemistry, 1994. **98**(31): p. 7665-7673.
71. Park, J., Joo, J., Kwon, S. G., Jang, Y., and Hyeon, T., *Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals*. Angewandte Chemie-International Edition, 2007. **46**(25): p. 4630-4660.
72. Talapin, D. V., Rogach, A. L., Kornowski, A., Haase, M., and Weller, H., *Highly luminescent monodisperse CdSe and CdSe/ZnS nanocrystals synthesized in a hexadecylamine-triethylphosphine oxide-triethylphosphine mixture*. Nano Letters, 2001. **1**(4): p. 207-211.

73. Hambrock, J., Becker, R., Birkner, A., Weiss, J., and Fischer, R. A., *A non-aqueous organometallic route to highly monodispersed copper nanoparticles using [Cu(OCH(Me)CH₂NMe₂)(2)]*. Chemical Communications, 2002(1): p. 68-69.
74. Jana, N. R. and Peng, X. G., *Single-phase and gram-scale routes toward nearly monodisperse Au and other noble metal nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(47): p. 14280-14281.
75. Seo, W. S., Jo, H. H., Lee, K., and Park, J. T., *Preparation and optical properties of highly crystalline, colloidal, and size-controlled indium oxide nanoparticles*. Advanced Materials, 2003. **15**(10): p. 795-797.
76. Joo, J., et al., *Generalized and facile synthesis of semiconducting metal sulfide nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(36): p. 11100-11105.
77. Park, J., et al., *Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals*. Nature Materials, 2004. **3**(12): p. 891-895.
78. Yu, W. W., Falkner, J. C., Yavuz, C. T., and Colvin, V. L., *Synthesis of monodisperse iron oxide nanocrystals by thermal decomposition of iron carboxylate salts*. Chemical Communications, 2004(20): p. 2306-2307.
79. Murray, C. B., Norris, D. J., and Bawendi, M. G., *Synthesis and Characterization of Nearly Monodisperse Cde (E = S, Se, Te) Semiconductor Nanocrystallites*. Journal of the American Chemical Society, 1993. **115**(19): p. 8706-8715.
80. Kwon, S. G., et al., *Kinetics of monodisperse iron oxide nanocrystal formation by "heating-up" process*. Journal of the American Chemical Society, 2007. **129**(41): p. 12571-12584.
81. Yin, Y. and Alivisatos, A. P., *Colloidal nanocrystal synthesis and the organic-inorganic interface*. Nature, 2005. **437**(7059): p. 664-670.
82. Weisbecker, C. S., Merritt, M. V., and Whitesides, G. M., *Molecular self-assembly of aliphatic thiols on gold colloids*. Langmuir, 1996. **12**(16): p. 3763-3772.
83. Lin, S. Y., Tsai, Y. T., Chen, C. C., Lin, C. M., and Chen, C. H., *Two-step functionalization of neutral and positively charged thiols onto citrate-stabilized Au nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(7): p. 2134-2139.
84. Love, J. C., Estroff, L. A., Kriebel, J. K., Nuzzo, R. G., and Whitesides, G. M., *Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology*. Chemical Reviews, 2005. **105**(4): p. 1103-1169.
85. Leff, D. V., Brandt, L., and Heath, J. R., *Synthesis and characterization of hydrophobic, organically-soluble gold nanocrystals functionalized with primary amines*. Langmuir, 1996. **12**(20): p. 4723-4730.
86. Laaksonen, T., Ahonen, P., Johans, C., and Kontturi, K., *Stability and electrostatics of mercaptoundecanoic acid-capped gold nanoparticles with varying counterion size*. Chemphyschem, 2006. **7**(10): p. 2143-2149.
87. Murray, C. B., Kagan, C. R., and Bawendi, M. G., *Synthesis and characterization of monodisperse nanocrystals and close-packed nanocrystal assemblies*. Annual Review of Materials Science, 2000. **30**: p. 545-610.
88. Trindade, T., O'Brien, P., and Pickett, N. L., *Nanocrystalline semiconductors: Synthesis, properties, and perspectives*. Chemistry of Materials, 2001. **13**(11): p. 3843-3858.

89. Cozzoli, P. D., Manna, L., Curri, M. L., Kudera, S., Giannini, C., Striccoli, M., and Agostiano, A., *Shape and phase control of colloidal ZnSe nanocrystals*. Chemistry of Materials, 2005. **17**(6): p. 1296-1306.
90. Trindade, T. and O'Brien, P., *A single source approach to the synthesis of CdSe nanocrystallites*. Advanced Materials, 1996. **8**(2): p. 161-&.
91. Trindade, T., O'Brien, P., and Zhang, X. M., *Synthesis of CdS and CdSe nanocrystallites using a novel single-molecule precursors approach*. Chemistry of Materials, 1997. **9**(2): p. 523-530.
92. Nair, P. S., Radhakrishnan, T., Revaprasadu, N., Kolawole, G., and O'Brien, P., *Cadmium ethylxanthate: A novel single-source precursor for the preparation of CdS nanoparticles*. Journal of Materials Chemistry, 2002. **12**(9): p. 2722-2725.
93. Malik, M. A., O'Brien, P., and Revaprasadu, N., *A simple route to the synthesis of core/shell nanoparticles of chalcogenides*. Chemistry of Materials, 2002. **14**(5): p. 2004-2010.
94. Murcia, M. J., Shaw, D. L., Woodruff, H., Naumann, C. A., Young, B. A., and Long, E. C., *Facile sonochemical synthesis of highly luminescent ZnS-shelled CdSe quantum dots*. Chemistry of Materials, 2006. **18**(9): p. 2219-2225.
95. Peng, Z. A. and Peng, X. G., *Formation of high-quality CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals using CdO as precursor*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(1): p. 183-184.
96. Peng, X. G., *Green chemical approaches toward high-quality semiconductor nanocrystals*. Chemistry-a European Journal, 2002. **8**(2): p. 335-339.
97. Yu, J. H., Joo, J., Park, H. M., Baik, S. I., Kim, Y. W., Kim, S. C., and Hyeon, T., *Synthesis of quantum-sized cubic ZnS nanorods by the oriented attachment mechanism*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(15): p. 5662-5670.
98. Yu, W. W. and Peng, X. G., *Formation of high-quality CdS and other II-VI semiconductor nanocrystals in noncoordinating solvents: Tunable reactivity of monomers*. Angewandte Chemie-International Edition, 2002. **41**(13): p. 2368-2371.
99. Pradhan, N., Katz, B., and Efrima, S., *Synthesis of high-quality metal sulfide nanoparticles from alkyl xanthate single precursors in alkylamine solvents*. Journal of Physical Chemistry B, 2003. **107**(50): p. 13843-13854.
100. Efrima, S. and Pradhan, N., *Xanthates and related compounds as versatile agents in colloid science*. Comptes Rendus Chimie, 2003. **6**(8-10): p. 1035-1045.
101. Pradhan, N. and Efrima, S., *Single-precursor, one-pot versatile synthesis under near ambient conditions of tunable, single and dual band fluorescing metal sulfide nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(8): p. 2050-2051.
102. Rogach, A., Kershaw, S., Burt, M., Harrison, M., Kornowski, A., Eychmuller, A., and Weller, H., *Colloidally prepared HgTe nanocrystals with strong room-temperature infrared luminescence*. Advanced Materials, 1999. **11**(7): p. 552-+.
103. Rogach, A. L., Kornowski, A., Gao, M. Y., Eychmuller, A., and Weller, H., *Synthesis and characterization of a size series of extremely small thiol-stabilized CdSe nanocrystals*. Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(16): p. 3065-3069.
104. Rogach, A. L., Katsikas, L., Kornowski, A., Su, D. S., Eychmuller, A., and Weller, H., *Synthesis and characterization of thiol-stabilized CdTe nanocrystals*. Berichte Der

- Bunsen-Gesellschaft-Physical Chemistry Chemical Physics, 1996. **100**(11): p. 1772-1778.
105. Rogach, A. L., Katsikas, L., Kornowski, A., Su, D., Eychmuller, A., and Weller, H., *Synthesis, morphology and optical properties of thiol-stabilized CdTe nanoclusters in aqueous solution*. Berichte Der Bunsen-Gesellschaft-Physical Chemistry Chemical Physics, 1997. **101**(11): p. 1668-1670.
 106. Gao, M. Y., Kirstein, S., Mohwald, H., Rogach, A. L., Kornowski, A., Eychmuller, A., and Weller, H., *Strongly photoluminescent CdTe nanocrystals by proper surface modification*. Journal of Physical Chemistry B, 1998. **102**(43): p. 8360-8363.
 107. Green, M., et al., *A facile route to CdTe nanoparticles and their use in bio-labelling*. Journal of Materials Chemistry, 2007. **17**(19): p. 1989-1994.
 108. Frens, G., *Controlled nucleation for regulation of particle-size in monodisperse gold suspensions*. Nature-Physical Science, 1973. **241**(105): p. 20-22.
 109. Yonezawa, T. and Kunitake, T., *Practical preparation of anionic mercapto ligand-stabilized gold nanoparticles and their immobilization*. Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects, 1999. **149**(1-3): p. 193-199.
 110. Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J., and Whyman, R., *Synthesis of Thiol-Derivatized Gold Nanoparticles in a 2-Phase Liquid-Liquid System*. Journal of the Chemical Society-Chemical Communications, 1994(7): p. 801-802.
 111. Brust, M., Fink, J., Bethell, D., Schiffrin, D. J., and Kiely, C., *Synthesis and Reactions of Functionalized Gold Nanoparticles*. Journal of the Chemical Society-Chemical Communications, 1995(16): p. 1655-1656.
 112. Chen, S. W., *4-hydroxythiophenol-protected gold nanoclusters in aqueous media*. Langmuir, 1999. **15**(22): p. 7551-7557.
 113. Chen, S. W. and Murray, R. W., *Arenethiolate monolayer-protected gold clusters*. Langmuir, 1999. **15**(3): p. 682-689.
 114. Jana, N. R., Gearheart, L., and Murphy, C. J., *Seeding growth for size control of 5-40 nm diameter gold nanoparticles*. Langmuir, 2001. **17**(22): p. 6782-6786.
 115. Perrault, S. D. and Chan, W. C. W., *Synthesis and Surface Modification of Highly Monodispersed, Spherical Gold Nanoparticles of 50-200 nm*. Journal of the American Chemical Society, 2009. **131**(47): p. 17042-17043.
 116. Njoki, P. N., et al., *Size Correlation of Optical and Spectroscopic Properties for Gold Nanoparticles*. J. Phys. Chem. C, 2007. **111**: p. 14664-14669.
 117. de la Presa, P., Multigner, M., de la Venta, J., Garcia, M. A., and Ruiz-Gonzalez, M. L., *Structural and magnetic characterization of oleic acid and oleylamine-capped gold nanoparticles*. Journal of Applied Physics, 2006. **100**(12): p. 123915-6.
 118. Chen, M., Feng, Y. G., Wang, X., Li, T. C., Zhang, J. Y., and Qian, D. J., *Silver nanoparticles capped by oleylamine: Formation, growth, and self-organization*. Langmuir, 2007. **23**(10): p. 5296-5304.
 119. Fievet, F., Lagier, J. P., Blin, B., Beaudoin, B., and Figlarz, M., *Homogeneous and Heterogeneous Nucleations in the Polyol Process for the Preparation of Micron and Sub-Micron Size Metal Particles*. Solid State Ionics, 1989. **32-3**: p. 198-205.
 120. Fievet, F., Lagier, J. P., and Figlarz, M., *Preparing Monodisperse Metal Powders in Micrometer and Submicrometer Sizes by the Polyol Process*. MRS Bulletin, 1989. **14**: p. 12.

121. Jeong, U., Teng, X. W., Wang, Y., Yang, H., and Xia, Y. N., *Superparamagnetic colloids: Controlled synthesis and niche applications*. Advanced Materials, 2007. **19**(1): p. 33-60.
122. Massart, R., *Préparation de ferrofluides aqueux en l'absence de surfactant; comportement en fonction du pH et de la nature des ions présents en solution*. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences Serie C, 1980. **291**: p. 1-3.
123. Bee, A., Massart, R., and Neveu, S., *Synthesis of Very Fine Maghemite Particles*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 1995. **149**(1-2): p. 6-9.
124. Hong, R. Y., Li, J. H., Li, H. Z., Ding, J., Zheng, Y., and Wei, D. G., *Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles without inert gas protection used as precursors of magnetic fluids*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2008. **320**(9): p. 1605-1614.
125. Shen, L. F., Laibinis, P. E., and Hatton, T. A., *Bilayer surfactant stabilized magnetic fluids: Synthesis and interactions at interfaces*. Langmuir, 1999. **15**(2): p. 447-453.
126. Rockenberger, J., Scher, E. C., and Alivisatos, A. P., *A new nonhydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal oxides*. Journal of the American Chemical Society, 1999. **121**(49): p. 11595-11596.
127. Hyeon, T., Lee, S. S., Park, J., Chung, Y., and Bin Na, H., *Synthesis of highly crystalline and monodisperse maghemite nanocrystallites without a size-selection process*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(51): p. 12798-12801.
128. Teng, X. W. and Yang, H., *Effects of surfactants and synthetic conditions on the sizes and self-assembly of monodisperse iron oxide nanoparticles*. Journal of Materials Chemistry, 2004. **14**(4): p. 774-779.
129. Cheon, J. W., Kang, N. J., Lee, S. M., Lee, J. H., Yoon, J. H., and Oh, S. J., *Shape evolution of single-crystalline iron oxide nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2004. **126**(7): p. 1950-1951.
130. Casula, M. F., Jun, Y. W., Zaziski, D. J., Chan, E. M., Corrias, A., and Alivisatos, A. P., *The concept of delayed nucleation in nanocrystal growth demonstrated for the case of iron oxide nanodisks*. Journal of the American Chemical Society, 2006. **128**(5): p. 1675-1682.
131. Woo, K., Hong, J., Choi, S., Lee, H. W., Ahn, J. P., Kim, C. S., and Lee, S. W., *Easy synthesis and magnetic properties of iron oxide nanoparticles*. Chemistry of Materials, 2004. **16**(14): p. 2814-2818.
132. Sun, S. H. and Zeng, H., *Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(28): p. 8204-8205.
133. Jana, N. R., Chen, Y. F., and Peng, X. G., *Size- and shape-controlled magnetic (Cr, Mn, Fe, Co, Ni) oxide nanocrystals via a simple and general approach*. Chemistry of Materials, 2004. **16**(20): p. 3931-3935.
134. Wang, X., Zhuang, J., Peng, Q., and Li, Y. D., *A general strategy for nanocrystal synthesis*. Nature, 2005. **437**(7055): p. 121-124.
135. Redl, F. X., et al., *Magnetic, electronic, and structural characterization of nonstoichiometric iron oxides at the nanoscale*. Journal of the American Chemical Society, 2004. **126**(44): p. 14583-14599.
136. Chen, M. and Nikles, D. E., *Synthesis of spherical FePd and CoPt nanoparticles*. Journal of Applied Physics, 2002. **91**(10): p. 8477-8479.

137. Tzitzios, V., Niarchos, D., Margariti, G., Fidler, J., and Petridis, D., *Synthesis of CoPt nanoparticles by a modified polyol method: characterization and magnetic properties*. Nanotechnology, 2005. **16**(2): p. 287-291.
138. Sun, S. H., Murray, C. B., Weller, D., Folks, L., and Moser, A., *Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices*. Science, 2000. **287**(5460): p. 1989-1992.
139. Chen, M., Liu, J. P., and Sun, S. H., *One-step synthesis of FePt nanoparticles with tunable size*. Journal of the American Chemical Society, 2004. **126**(27): p. 8394-8395.
140. Liu, C., et al., *Polyol process synthesis of monodispersed FePt nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(20): p. 6121-6123.
141. Shevchenko, E. V., Talapin, D. V., Rogach, A. L., Kornowski, A., Haase, M., and Weller, H., *Colloidal synthesis and self-assembly of CoPt₃ nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(38): p. 11480-11485.
142. Shevchenko, E. V., et al., *Study of nucleation and growth in the organometallic synthesis of magnetic alloy nanocrystals: The role of nucleation rate in size control of CoPt₃ nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(30): p. 9090-9101.
143. Chen, M. and Nikles, D. E., *Synthesis, self-assembly, and magnetic properties of Fe_xCoyPt_{100-x-y} nanoparticles*. Nano Letters, 2002. **2**(3): p. 211-214.
144. Yin, M. and O'Brien, S., *Synthesis of monodisperse nanocrystals of manganese oxides*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(34): p. 10180-10181.
145. Seo, W. S., Jo, H. H., Lee, K., Kim, B., Oh, S. J., and Park, J. T., *Size-dependent magnetic properties of colloidal Mn₃O₄ and MnO nanoparticles*. Angewandte Chemie-International Edition, 2004. **43**(9): p. 1115-1117.
146. Park, J., et al., *Synthesis, characterization, and magnetic properties of uniform-sized MnO nanospheres and nanorods*. Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(36): p. 13594-13598.
147. Park, J., et al., *One-nanometer-scale size-controlled synthesis of monodisperse magnetic iron oxide nanoparticles*. Angewandte Chemie-International Edition, 2005. **44**(19): p. 2872-2877.
148. Xu, Z. C., Shen, C. M., Hou, Y. L., Gao, H. J., and Sun, S. S., *Oleylamine as Both Reducing Agent and Stabilizer in a Facile Synthesis of Magnetite Nanoparticles*. Chemistry of Materials, 2009. **21**(9): p. 1778-1780.
149. Mancini, M. C., Kairdolf, B. A., Smith, A. M., and Nie, S. M., *Oxidative quenching and degradation of polymer-encapsulated quantum dots: New insights into the long-term fate and toxicity of nanocrystals in vivo*. Journal of the American Chemical Society, 2008. **130**(33): p. 10836-+.
150. Gupta, A. K., Berry, C., Gupta, M., and Curtis, A., *Receptor-mediated targeting of magnetic nanoparticles using insulin as a surface ligand to prevent endocytosis*. IEEE Transactions on Nanobioscience, 2003. **2**(4): p. 255-261.
151. Berry, C. C. and Curtis, A. S. G., *Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2003. **36**(13): p. R198-R206.

152. Nune, S. K., Gunda, P., Thallapally, P. K., Lin, Y. Y., Forrest, M. L., and Berkland, C. J., *Nanoparticles for biomedical imaging*. Expert Opinion on Drug Delivery, 2009. **6**(11): p. 1175-1194.
153. Zolnik, B. S., Gonzalez-Fernandez, A., Sadrieh, N., and Dobrovolskaia, M. A., *Minireview: Nanoparticles and the Immune System*. Endocrinology, 2010. **151**(2): p. 458-465.
154. Schmid, G. and Lehnert, A., *The Complexation of Gold Colloids*. Angewandte Chemie-International Edition in English, 1989. **28**(6): p. 780-781.
155. Loweth, C. J., Caldwell, W. B., Peng, X. G., Alivisatos, A. P., and Schultz, P. G., *DNA-based assembly of gold nanocrystals*. Angewandte Chemie-International Edition, 1999. **38**(12): p. 1808-1812.
156. Weare, W. W., Reed, S. M., Warner, M. G., and Hutchison, J. E., *Improved synthesis of small ($d_{\text{CORE}} \approx 1.5$ nm) phosphine-stabilized gold nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2000. **122**(51): p. 12890-12891.
157. Aldana, J., Wang, Y. A., and Peng, X. G., *Photochemical instability of CdSe nanocrystals coated by hydrophilic thiols*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(36): p. 8844-8850.
158. Huang, C. P., Liu, H. W., Tsao, C. Y., Yin, L. T., Chiu, S. F., and Chen, T. M., *Plate-based biochemical assay using quantum dots as a fluorescent labeling agent*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2005. **108**(1-2): p. 713-720.
159. Liu, T. C., Huang, Z. L., Wang, H. Q., Wang, J. H., Li, X. Q., Zhao, Y. D., and Luo, Q. M., *Temperature-dependent photoluminescence of water-soluble quantum dots for a bioprobe*. Analytica Chimica Acta, 2006. **559**(1): p. 120-123.
160. Liu, Y. S., Sun, Y. H., Vernier, P. T., Liang, C. H., Chong, S. Y. C., and Gundersen, M. A., *pH-sensitive photoluminescence of CdSe/ZnSe/ZnS quantum dots in human ovarian cancer cells*. Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(7): p. 2872-2878.
161. Mattoussi, H., Mauro, J. M., Goldman, E. R., Anderson, G. P., Sundar, V. C., Mikulec, F. V., and Bawendi, M. G., *Self-assembly of CdSe-ZnS quantum dot bioconjugates using an engineered recombinant protein*. Journal of the American Chemical Society, 2000. **122**(49): p. 12142-12150.
162. Parak, W. J., et al., *Biological applications of colloidal nanocrystals*. Nanotechnology, 2003. **14**(7): p. R15-R27.
163. Kim, S. and Bawendi, M. G., *Oligomeric Ligands for luminescent and stable nanocrystal quantum dots*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(48): p. 14652-14653.
164. Uyeda, H. T., Medintz, I. L., Jaiswal, J. K., Simon, S. M., and Mattoussi, H., *Synthesis of compact multidentate ligands to prepare stable hydrophilic quantum dot fluorophores*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(11): p. 3870-3878.
165. Ackerson, C. J., Jadzinsky, P. D., and Kornberg, R. D., *Thiolate ligands for synthesis of water-soluble gold clusters*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(18): p. 6550-6551.
166. Hiramatsu, H. and Osterloh, F. E., *A simple large-scale synthesis of nearly monodisperse gold and silver nanoparticles with adjustable sizes and with exchangeable surfactants*. Chemistry of Materials, 2004. **16**(13): p. 2509-2511.

167. Guo, W. H., Li, J. J., Wang, Y. A., and Peng, X. G., *Luminescent CdSe/CdS core/shell nanocrystals in dendron boxes: Superior chemical, photochemical and thermal stability*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(13): p. 3901-3909.
168. Guo, W. Z., Li, J. J., Wang, Y. A., and Peng, X. G., *Conjugation chemistry and bioapplications of semiconductor box nanocrystals prepared via dendrimer bridging*. Chemistry of Materials, 2003. **15**(16): p. 3125-3133.
169. Wang, Y. A., Li, J. J., Chen, H. Y., and Peng, X. G., *Stabilization of inorganic nanocrystals by organic dendrons*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(10): p. 2293-2298.
170. Kim, M., Chen, Y. F., Liu, Y. C., and Peng, X. G., *Super-stable, high-quality Fe₃O₄ dendron-nanocrystals dispersible in both organic and aqueous solutions*. Advanced Materials, 2005. **17**(11): p. 1429-+.
171. Gerion, D., Pinaud, F., Williams, S. C., Parak, W. J., Zanchet, D., Weiss, S., and Alivisatos, A. P., *Synthesis and properties of biocompatible water-soluble silica-coated CdSe/ZnS semiconductor quantum dots*. Journal of Physical Chemistry B, 2001. **105**(37): p. 8861-8871.
172. Iler, R. K., *The Chemistry of Silica: Solubility, Polymerization, Colloid and Surface Properties and Biochemistry of Silica*. 1979, New York: John Wiley & Sons.
173. Jana, N. R., Earhart, C., and Ying, J. Y., *Synthesis of water-soluble and functionalized nanoparticles by silica coating*. Chemistry of Materials, 2007. **19**(21): p. 5074-5082.
174. Selvan, S. T., Patra, P. K., Ang, C. Y., and Ying, J. Y., *Synthesis of silica-coated semiconductor and magnetic quantum dots and their use in the imaging of live cells*. Angewandte Chemie-International Edition, 2007. **46**(14): p. 2448-2452.
175. Selvan, S. T., Tan, T. T., and Ying, J. Y., *Robust, non-cytotoxic, silica-coated CdSe quantum dots with efficient photoluminescence*. Advanced Materials, 2005. **17**(13): p. 1620-+.
176. Tan, T. T., Selvan, S. T., Zhao, L., Gao, S. J., and Ying, J. Y., *Size control, shape evolution, and silica coating of near-infrared-emitting PbSe quantum dots*. Chemistry of Materials, 2007. **19**(13): p. 3112-3117.
177. Yi, D. K., Selvan, S. T., Lee, S. S., Papaefthymiou, G. C., Kundaliya, D., and Ying, J. Y., *Silica-coated nanocomposites of magnetic nanoparticles and quantum dots*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(14): p. 4990-4991.
178. Koole, R., et al., *On the incorporation mechanism of hydrophobic quantum dots in silica spheres by a reverse microemulsion method*. Chemistry of Materials, 2008. **20**(7): p. 2503-2512.
179. Kim, J., et al., *Multifunctional Uniform Nanoparticles Composed of a Magnetite Nanocrystal Core and a Mesoporous Silica Shell for Magnetic Resonance and Fluorescence Imaging and for Drug Delivery*. Angewandte Chemie-International Edition, 2008. **47**(44): p. 8438-8441.
180. Hu, X. G., Zrazhevskiy, P., and Gao, X. H., *Encapsulation of Single Quantum Dots with Mesoporous Silica*. Annals of Biomedical Engineering, 2009. **37**(10): p. 1960-1966.
181. Gao, X. H., Cui, Y. Y., Levenson, R. M., Chung, L. W. K., and Nie, S. M., *In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots*. Nature Biotechnology, 2004. **22**(8): p. 969-976.

182. Pellegrino, T., et al., *Hydrophobic nanocrystals coated with an amphiphilic polymer shell: A general route to water soluble nanocrystals*. Nano Letters, 2004. **4**(4): p. 703-707.
183. Ballou, B., Lagerholm, B. C., Ernst, L. A., Bruchez, M. P., and Waggoner, A. S., *Noninvasive imaging of quantum dots in mice*. Bioconjugate Chemistry, 2004. **15**(1): p. 79-86.
184. Dubertret, B., Skourides, P., Norris, D. J., Noireaux, V., Brivanlou, A. H., and Libchaber, A., *In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles*. Science, 2002. **298**(5599): p. 1759-1762.
185. Mattheakis, L. C., Dias, J. M., Choi, Y. J., Gong, J., Bruchez, M. P., Liu, J. Q., and Wang, E., *Optical coding of mammalian cells using semiconductor quantum dots*. Analytical Biochemistry, 2004. **327**(2): p. 200-208.
186. Jin, T., Fujii, F., Sakata, H., Tamura, M., and Kinjo, M., *Calixarene-coated water-soluble CdSe-ZnS semiconductor quantum dots that are highly fluorescent and stable in aqueous solution*. Chemical Communications, 2005(22): p. 2829-2831.
187. Jin, T., Fujii, F., Sakata, H., Tamura, M., and Kinjo, M., *Amphiphilic p-sulfonatocalix[4]arene-coated CdSe/ZnS quantum dots for the optical detection of the neurotransmitter acetylcholine*. Chemical Communications, 2005(34): p. 4300-4302.
188. Liu, J. A., Li, H. B., Wang, W., Xu, H. B., Yang, X. L., Liang, J. G., and He, Z. K., *Use of ester-terminated polyamidoamine dendrimers for stabilizing quantum dots in aqueous solutions*. Small, 2006. **2**(8-9): p. 999-1002.
189. Lovell, P. A. and El-Aasser, M. S., *Emulsion polymerization and emulsion polymers*. 1997, UK: John Wiley and Sons.
190. Schork, F. J., Luo, Y., Smulders, W., Russum, J. P., Butté, A., and Fontenot, K., *Miniemulsion Polymerization*, in *Polymer Particles*, M. Okubo, Editor. 2005, Springer Berlin / Heidelberg. p. 129-255.
191. Asua, J. M., *Emulsion polymerization: From fundamental mechanisms to process developments*. Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry, 2004. **42**(5): p. 1025-1041.
192. Asua, J. M., *Miniemulsion polymerization*. Progress in Polymer Science, 2002. **27**(7): p. 1283-1346.
193. Reimers, J. L. and Schork, F. J., *Predominant droplet nucleation in emulsion polymerization*. Journal of Applied Polymer Science, 1996. **60**(2): p. 251-262.
194. Reimers, J. and Schork, F. J., *Robust nucleation in polymer-stabilized miniemulsion polymerization*. Journal of Applied Polymer Science, 1996. **59**(12): p. 1833-1841.
195. Landfester, K., *Polyreactions in Miniemulsions*. Macromolecular Rapid Communications, 2001. **22**: p. 896-936.
196. Antonietti, M. and Landfester, K., *Polyreactions in miniemulsions*. Progress in Polymer Science, 2002. **27**(4): p. 689-757.
197. Landfester, K., Bechthold, N., Tiarks, F., and Antonietti, M., *Formulation and stability mechanisms of polymerizable miniemulsions*. Macromolecules, 1999. **32**(16): p. 5222-5228.

198. Li, C., Han, J., Ryu, C. Y., and Benicewicz, B. C., *A versatile method to prepare RAFT agent anchored substrates and the preparation of PMMA grafted nanoparticles*. *Macromolecules*, 2006. **39**(9): p. 3175-3183.
199. Erdem, B., Sudol, E. D., Dimonie, V. L., and El-Aasser, M. S., *Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. III. Characterization of encapsulation*. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 2000. **38**(24): p. 4441-4450.
200. Erdem, B., Sudol, E. D., Dimonie, V. L., and El-Aasser, M. S., *Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. II. Preparation and characterization of styrene miniemulsion droplets containing TiO₂ particles*. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 2000. **38**(24): p. 4431-4440.
201. Erdem, B., Sudol, E. D., Dimonie, V. L., and El-Aasser, M. S., *Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. I. Dispersion of titanium dioxide particles in organic media using OLOA 370 as stabilizer*. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 2000. **38**(24): p. 4419-4430.
202. Tiarks, F., Landfester, K., and Antonietti, M., *Silica nanoparticles as surfactants and fillers for latexes made by miniemulsion polymerization*. *Langmuir*, 2001. **17**(19): p. 5775-5780.
203. Tiarks, F., Landfester, K., and Antonietti, M., *Encapsulation of carbon black by miniemulsion polymerization*. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2001. **202**(1): p. 51-60.
204. Esteves, A. C. C., Barros-Timmons, A., Monteiro, I., and Trindade, T., *Polymer encapsulation of CdE (E = S, Se) quantum dot ensembles via in-situ radical polymerization in miniemulsion*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2005. **5**(5): p. 766-771.
205. Joumaa, N., Lansalot, M., Theretz, A., and Elaissari, A., *Synthesis of quantum dot-tagged submicrometer polystyrene particles by miniemulsion polymerization*. *Langmuir*, 2006. **22**(4): p. 1810-1816.
206. Martins, M. A., Neves, M. C., Esteves, A. C. C., Girginova, P. I., Guiomar, A. J., Amaral, V. S., and Trindade, T., *Biofunctionalized ferromagnetic CoPt₃/polymer nanocomposites*. *Nanotechnology*, 2007. **18**(21): p. -.
207. Fleischhaker, F. and Zentel, R., *Photonic crystals from core-shell colloids with incorporated highly fluorescent quantum dots*. *Chemistry of Materials*, 2005. **17**(6): p. 1346-1351.
208. Peres, M., et al., *A green-emitting CdSe/poly(butyl acrylate) nanocomposite*. *Nanotechnology*, 2005. **16**(9): p. 1969-1973.
209. Zhu, M. Q., Chang, E., Sun, J. T., and Drezek, R. A., *Surface modification and functionalization of semiconductor quantum dots through reactive coating of silanes in toluene*. *Journal of Materials Chemistry*, 2007. **17**(8): p. 800-805.
210. Bao, Z. Y., Bruening, M. L., and Baker, G. L., *Rapid growth of polymer brushes from immobilized initiators*. *Journal of the American Chemical Society*, 2006. **128**(28): p. 9056-9060.
211. Ohno, K., Koh, K., Tsujii, Y., and Fukuda, T., *Fabrication of ordered arrays of gold nanoparticles coated with high-density polymer brushes*. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2003. **42**(24): p. 2751-2754.

212. Ohno, K., Morinaga, T., Koh, K., Tsujii, Y., and Fukuda, T., *Synthesis of monodisperse silica particles coated with well-defined, high-density polymer brushes by surface-initiated atom transfer radical polymerization*. *Macromolecules*, 2005. **38**(6): p. 2137-2142.
213. Zhao, H. Y., Kang, X. L., and Liu, L., *Comb-coil polymer brushes on the surface of silica nanoparticles*. *Macromolecules*, 2005. **38**(26): p. 10619-10622.
214. Marutani, E., Yamamoto, S., Ninjbadgar, T., Tsujii, Y., Fukuda, T., and Takano, M., *Surface-initiated atom transfer radical polymerization of methyl methacrylate on magnetite nanoparticles*. *Polymer*, 2004. **45**(7): p. 2231-2235.
215. Skaff, H. and Emrick, T., *Reversible addition fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization from unprotected cadmium selenide nanoparticles*. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2004. **43**(40): p. 5383-5386.
216. Sill, K. and Emrick, T., *Nitroxide-mediated radical polymerization from CdSe nanoparticles*. *Chemistry of Materials*, 2004. **16**(7): p. 1240-1243.
217. Esteves, A. C. C., Bombalski, L., Trindade, T., Matyjaszewski, K., and Barros-Timmons, A., *Polymer grafting from Cds quantum dots via AGET ATRP in miniemulsion*. *Small*, 2007. **3**(7): p. 1230-1236.
218. Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*. 2nd ed, ed. T.F.S. Pierce Biotechnology. 2008, Rockford, Illinois, USA: Academic Press.
219. Chan, W. C. W. and Nie, S., *Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection*. *Science*, 1998. **281**(5385): p. 2016-2018.
220. Koneracka, M., et al., *Immobilization of proteins and enzymes to fine magnetic particles*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999. **201**: p. 427-430.
221. Chen, L. D., et al., *The biocompatibility of quantum dot probes used for the targeted imaging of hepatocellular carcinoma metastasis*. *Biomaterials*, 2008. **29**(31): p. 4170-4176.
222. Sperling, R. A. and Parak, W. J., *Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles*. *Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences*, 2010. **368**(1915): p. 1333-1383.
223. Lin, P. C., Chou, P. H., Chen, S. H., Liao, H. K., Wang, K. Y., Chen, Y. J., and Lin, C. C., *Ethylene glycol-protected magnetic nanoparticles for a multiplexed immunoassay in human plasma*. *Small*, 2006. **2**(4): p. 485-489.
224. Ho, K.-C., Tsai, P.-J., Lin, Y.-S., and Chen, Y.-C., *Using Biofunctionalized Nanoparticles To Probe Pathogenic Bacteria*. *Analytical Chemistry*, 2004. **76**(24): p. 7162-7168.
225. Lin, Y.-S., Tsai, P.-J., Weng, M.-F., and Chen, Y.-C., *Affinity Capture Using Vancomycin-Bound Magnetic Nanoparticles for the MALDI-MS Analysis of Bacteria*. *Analytical Chemistry*, 2005. **77**(6): p. 1753-1760.
226. Brinkley, M., *A Brief Survey of Methods for Preparing Protein Conjugates with Dyes, Haptens, and Cross-Linking Reagents*. *Bioconjugate Chemistry*, 1992. **3**(1): p. 2-13.
227. Huh, Y. M., et al., *In vivo magnetic resonance detection of cancer by using multifunctional magnetic nanocrystals*. *Journal of the American Chemical Society*, 2005. **127**(35): p. 12387-12391.

228. Bonasio, R., et al., *Specific and covalent labeling of a membrane protein with organic fluorochromes and quantum dots*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007. **104**(37): p. 14753-14758.
229. Gindy, M. E., Ji, S. X., Hoyer, T. R., Panagiotopoulos, A. Z., and Prud'homme, R. K., *Preparation of Poly(ethylene glycol) Protected Nanoparticles with Variable Bioconjugate Ligand Density*. Biomacromolecules, 2008. **9**(10): p. 2705-2711.
230. Lee, J. H., Jun, Y. W., Yeon, S. I., Shin, J. S., and Cheon, J., *Dual-mode nanoparticle probes for high-performance magnetic resonance and fluorescence imaging of neuroblastoma*. Angewandte Chemie-International Edition, 2006. **45**(48): p. 8160-8162.
231. White, M. A., Johnson, J. A., Koberstein, J. T., and Turro, N. J., *Toward the syntheses of universal ligands for metal oxide surfaces: Controlling surface functionality through click chemistry*. Journal of the American Chemical Society, 2006. **128**(35): p. 11356-11357.
232. Fleming, D. A., Thode, C. J., and Williams, M. E., *Triazole cycloaddition as a general route for functionalization of Au nanoparticles*. Chemistry of Materials, 2006. **18**(9): p. 2327-2334.
233. Sun, X. L., Stabler, C. L., Cazalis, C. S., and Chaikof, E. L., *Carbohydrate and protein immobilization onto solid surfaces by sequential Diels-Alder and azide-alkyne cycloadditions*. Bioconjugate Chemistry, 2006. **17**(1): p. 52-57.
234. Chang, P. V., et al., *Copper-free click chemistry in living animals*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010. **107**(5): p. 1821-1826.
235. Hilliard, L. R., Zhao, X., and Tan, W., *Immobilization of oligonucleotides onto silica nanoparticles for DNA hybridization studies*. Analytica Chimica Acta, 2002. **470**(1): p. 51-56.
236. Lee, J.-H., Lee, K., Moon, S. H., Lee, Y., Park, T. G., and Cheon, J., *All-in-One Target-Cell-Specific Magnetic Nanoparticles for Simultaneous Molecular Imaging and siRNA Delivery*. Angewandte Chemie International Edition, 2009. **48**(23): p. 4174-4179.
237. Tian, L., Shi, C., and Zhu, J., *Reversible formation of hybrid nanostructures via an organic linkage*. Chemical Communications, 2007(37): p. 3850-3852.
238. El-Sayed, M. E. H., Hoffman, A. S., and Stayton, P. S., *Rational design of composition and activity correlations for pH-sensitive and glutathione-reactive polymer therapeutics*. Journal of Controlled Release, 2005. **101**(1-3): p. 47-58.
239. Wilchek, M. and Bayer, E. A., *The avidin-biotin complex in bioanalytical applications*. Analytical Biochemistry, 1988. **171**(1): p. 1-32.
240. Wilchek, M. and Bayer, E. A., *Avidin-biotin technology ten years on: has it lived up to its expectations?* Trends in Biochemical Sciences, 1989. **14**(10): p. 408-412.
241. Aslan, K., Luhrs, C. C., and Pérez-Luna, V. H., *Controlled and Reversible Aggregation of Biotinylated Gold Nanoparticles with Streptavidin*. The Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(40): p. 15631-15639.
242. Xu, C., et al., *Dopamine as A Robust Anchor to Immobilize Functional Molecules on the Iron Oxide Shell of Magnetic Nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2004. **126**(32): p. 9938-9939.

243. Xu, C., et al., *Nitrilotriacetic Acid-Modified Magnetic Nanoparticles as a General Agent to Bind Histidine-Tagged Proteins*. Journal of the American Chemical Society, 2004. **126**(11): p. 3392-3393.
244. Abad, J. M., Mertens, S. F. L., Pita, M., Fernandez, V. M., and Schiffrin, D. J., *Functionalization of thioctic acid-capped gold nanoparticles for specific immobilization of histidine-tagged proteins*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(15): p. 5689-5694.
245. Gole, A., Dash, C., Ramakrishnan, V., Sainkar, S. R., Mandale, A. B., Rao, M., and Sastry, M., *Pepsin-Gold Colloid Conjugates: Preparation, Characterization, and Enzymatic Activity*. Langmuir, 2001. **17**(5): p. 1674-1679.
246. Gao, X., Chan, W. C. W., and Nie, S., *Quantum-dot nanocrystals for ultrasensitive biological labeling and multicolor optical encoding*. Journal of Biomedical Optics, 2002. **7**(4): p. 532-537.
247. Potapova, I., Mruk, R., Prehl, S., Zentel, R., Basche, T., and Mews, A., *Semiconductor nanocrystals with multifunctional polymer ligands*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(2): p. 320-321.
248. Galow, T. H., Boal, A. K., and Rotello, V. M., *A "building block" approach to mixed-colloid systems through electrostatic self-organization*. Advanced Materials, 2000. **12**(8): p. 576-579.
249. Han, G., You, C. C., Kim, B. J., Turingan, R. S., Forbes, N. S., Martin, C. T., and Rotello, V. M., *Light-regulated release of DNA and its delivery to nuclei by means of photolabile gold nanoparticles*. Angewandte Chemie-International Edition, 2006. **45**(19): p. 3165-3169.
250. Li, D., Li, G. P., Guo, W. W., Li, P. C., Wang, E. K., and Wang, J., *Glutathione-mediated release of functional plasmid DNA from positively charged quantum dots*. Biomaterials, 2008. **29**(18): p. 2776-2782.
251. Shinkai, M., *Functional magnetic particles for medical application*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2002. **94**(6): p. 606-613.
252. Nagatani, N., et al., *Gene delivery for genetically engineered mucosal cells with enhanced function*. Biotechnology Letters, 2000. **22**(12): p. 999-1002.
253. Giljohann, D. A. and Mirkin, C. A., *Drivers of biodiagnostic development*. Nature, 2009. **462**(7272): p. 461-464.
254. Jaiswal, J. K. and Simon, S. M., *Potentials and pitfalls of fluorescent quantum dots for biological imaging*. Trends in Cell Biology, 2004. **14**(9): p. 497-504.
255. Alivisatos, A. P., Gu, W. W., and Larabell, C., *Quantum dots as cellular probes*. Annual Review of Biomedical Engineering, 2005. **7**: p. 55-76.
256. Michalet, X., et al., *Quantum Dots for Live Cells, in Vivo Imaging, and Diagnostics*. Science, 2005. **307**: p. 538-544.
257. Kirchner, C., et al., *Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles*. Nano Letters, 2005. **5**(2): p. 331-338.
258. Hardman, R., *A toxicologic review of quantum dots: Toxicity depends on physicochemical and environmental factors*. Environmental Health Perspectives, 2006. **114**(2): p. 165-172.

259. Connor, E. E., Mwamuka, J., Gole, A., Murphy, C. J., and Wyatt, M. D., *Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity*. Small, 2005. **1**(3): p. 325-327.
260. Chithrani, B. D., Ghazani, A. A., and Chan, W. C. W., *Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells*. Nano Letters, 2006. **6**(4): p. 662-668.
261. Patra, H. K., Banerjee, S., Chaudhuri, U., Lahiri, P., and Dasgupta, A. K., *Cell selective response to gold nanoparticles*. Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine, 2007. **3**(2): p. 111-119.
262. Smith, A. M., Duan, H. W., Mohs, A. M., and Nie, S. M., *Bioconjugated quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008. **60**(11): p. 1226-1240.
263. Albrecht, M. A., Evans, C. W., and Raston, C. L., *Green chemistry and the health implications of nanoparticles*. Green Chemistry, 2006. **8**(5): p. 417-432.
264. Shukla, R., Bansal, V., Chaudhary, M., Basu, A., Bhonde, R. R., and Sastry, M., *Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: A microscopic overview*. Langmuir, 2005. **21**(23): p. 10644-10654.
265. Goodman, C. M., McCusker, C. D., Yilmaz, T., and Rotello, V. M., *Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains*. Bioconjugate Chemistry, 2004. **15**(4): p. 897-900.
266. Pan, Y., et al., *Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles*. Small, 2007. **3**(11): p. 1941-1949.
267. Tsoli, M., Kuhn, H., Brandau, W., Esche, H., and Schmid, G., *Cellular uptake and toxicity of Au(55) clusters*. Small, 2005. **1**(8-9): p. 841-844.
268. Schmid, G., *The relevance of shape and size of Au₅₅ clusters*. Chemical Society Reviews, 2008. **37**(9): p. 1909-1930.
269. Lok, C., *Picture perfect*. Nature, 2001. **412**(6845): p. 372-374.
270. Weinmann, H. J., Ebert, W., Misselwitz, B., and Schmitt-Willich, H., *Tissue-specific MR contrast agents*. European Journal of Radiology, 2003. **46**(1): p. 33-44.
271. Kubaska, S., Sahani, D. V., Saini, S., Hahn, P. F., and Halpern, E., *Dual contrast enhanced magnetic resonance imaging of the liver with superparamagnetic iron oxide followed by gadolinium for lesion detection and characterization*. Clinical Radiology, 2001. **56**(5): p. 410-415.
272. Zhang, C. Y., Yeh, H. C., Kuroki, M. T., and Wang, T. H., *Single-quantum-dot-based DNA nanosensor*. Nature Materials, 2005. **4**(11): p. 826-831.
273. Medintz, I. L., Clapp, A. R., Mattoussi, H., Goldman, E. R., Fisher, B., and Mauro, J. M., *Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot FRET donors*. Nature Materials, 2003. **2**(9): p. 630-638.
274. Tran, P. T., Goldman, E. R., Anderson, G. P., Mauro, J. M., and Mattoussi, H., *Use of luminescent CdSe-ZnS nanocrystal bioconjugates in quantum dot-based nanosensors*. Physica Status Solidi B-Basic Research, 2002. **229**(1): p. 427-432.
275. So, M. K., Xu, C. J., Loening, A. M., Gambhir, S. S., and Rao, J. H., *Self-illuminating quantum dot conjugates for in vivo imaging*. Nature Biotechnology, 2006. **24**(3): p. 339-343.

276. Campion, A. and Kambhampati, P., *Surface-enhanced Raman scattering*. Chemical Society Reviews, 1998. **27**(4): p. 241-250.
277. Kneipp, K., Kneipp, H., and Kneipp, J., *Surface-enhanced Raman scattering in local optical fields of silver and gold nanoaggregates - From single-molecule Raman spectroscopy to ultrasensitive probing in live cells*. Accounts of Chemical Research, 2006. **39**(7): p. 443-450.
278. Moskovits, M., *Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective*. Journal of Raman Spectroscopy, 2005. **36**(6-7): p. 485-496.
279. Nie, S. M. and Emory, S. R., *Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering*. Science, 1997. **275**(5303): p. 1102-1106.
280. Krug, J. T., Wang, G. D., Emory, S. R., and Nie, S. M., *Efficient Raman enhancement and intermittent light emission observed in single gold nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 1999. **121**(39): p. 9208-9214.
281. Cao, Y. W. C., Jin, R. C., and Mirkin, C. A., *Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection*. Science, 2002. **297**(5586): p. 1536-1540.
282. Ni, J., Lipert, R. J., Dawson, G. B., and Porter, M. D., *Immunoassay readout method using extrinsic Raman labels adsorbed on immunogold colloids*. Analytical Chemistry, 1999. **71**(21): p. 4903-4908.
283. Qian, X. M., et al., *In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags*. Nature Biotechnology, 2008. **26**(1): p. 83-90.
284. Abalde-Cela, S., Aldeanueva-Potel, P., Mateo-Mateo, C., Rodriguez-Lorenzo, L., Alvarez-Puebla, R. A., and Liz-Marzan, L. M., *Surface-enhanced Raman scattering biomedical applications of plasmonic colloidal particles*. Journal of the Royal Society Interface, 2010. **7**: p. S435-S450.
285. Rauf, S., Glidle, A., and Cooper, J. M., *Production of Quantum Dot Barcodes Using Biological Self-Assembly*. Advanced Materials, 2009. **21**(40): p. 4020-+.
286. Pallaoro, A., Braun, G. B., Reich, N. O., and Moskovits, M., *Mapping Local pH in Live Cells Using Encapsulated Fluorescent SERS Nanotags*. Small, 2010. **6**(5): p. 618-622.
287. Chung, S. H., Hoffmann, A., Bader, S. D., Liu, C., Kay, B., Makowski, L., and Chen, L., *Biological sensors based on Brownian relaxation of magnetic nanoparticles*. Applied Physics Letters, 2004. **85**(14): p. 2971-2973.
288. Chung, S. H., et al., *Biological sensing with magnetic nanoparticles using Brownian relaxation (invited)*. Journal of Applied Physics, 2005. **97**(10): p. -.
289. Angelatos, A. S., Radt, B., and Caruso, F., *Light-responsive polyelectrolyte/gold nanoparticle microcapsules*. Journal of Physical Chemistry B, 2005. **109**(7): p. 3071-3076.
290. Skirtach, A. G., et al., *The role of metal nanoparticles in remote release of encapsulated materials*. Nano Letters, 2005. **5**(7): p. 1371-1377.
291. Skirtach, A. G., et al., *Laser-induced release of encapsulated materials inside living cells*. Angewandte Chemie-International Edition, 2006. **45**(28): p. 4612-4617.
292. Govorov, A. O. and Richardson, H. H., *Generating heat with metal nanoparticles*. Nano Today, 2007. **2**(1): p. 30-38.
293. Govorov, A. O., Zhang, W., Skeini, T., Richardson, H., Lee, J., and Kotov, N. A., *Gold nanoparticle ensembles as heaters and actuators: melting and collective plasmon resonances*. Nanoscale Research Letters, 2006. **1**(1): p. 84-90.

294. Huff, T. B., Tong, L., Zhao, Y., Hansen, M. N., Cheng, J. X., and Wei, A., *Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells*. *Nanomedicine*, 2007. **2**(1): p. 125-132.
295. Huang, X. H., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., and El-Sayed, M. A., *Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells with the use of immunotargeted gold nanoparticles*. *Photochemistry and Photobiology*, 2006. **82**(2): p. 412-417.
296. Chen, J. Y., et al., *Immuno gold nanocages with tailored optical properties for targeted photothermal destruction of cancer cells*. *Nano Letters*, 2007. **7**(5): p. 1318-1322.
297. Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K., and Dobson, J., *Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine*. *Journal of Physics D-Applied Physics*, 2003. **36**(13): p. R167-R181.
298. Hiergeist, R., Andra, W., Buske, N., Hergt, R., Hilger, I., Richter, U., and Kaiser, W., *Application of magnetite ferrofluids for hyperthermia*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999. **201**: p. 420-422.
299. Fortin, J. P., Gazeau, F., and Wilhelm, C., *Intracellular heating of living cells through Neel relaxation of magnetic nanoparticles*. *European Biophysics Journal with Biophysics Letters*, 2008. **37**(2): p. 223-228.
300. Rovers, S. A., Hoogenboom, R., Kemmere, M. F., and Keurentjes, J. T. F., *Relaxation processes of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in liquid and incorporated in poly(methyl methacrylate)*. *Journal of Physical Chemistry C*, 2008. **112**(40): p. 15643-15646.
301. Bruchez, M., Jr., Moronne, M., Gin, P., Weiss, S., and Alivisatos, A. P., *Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels*. *Science*, 1998. **281**(5385): p. 2013-2016.
302. Resch-Genger, U., Grabolle, M., Cavaliere-Jaricot, S., Nitschke, R., and Nann, T., *Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels*. *Nature Methods*, 2008. **5**(9): p. 763-775.
303. Bailey, R. E., Smith, A. M., and Nie, S. M., *Quantum dots in biology and medicine*. *Physica E-Low-Dimensional Systems & Nanostructures*, 2004. **25**(1): p. 1-12.
304. Medintz, I. L., Uyeda, H. T., Goldman, E. R., and Mattousi, H., *Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing*. *Nature Materials*, 2005. **4**: p. 436-446.
305. Wu, X. Y., et al., *Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots*. *Nature Biotechnology*, 2003. **21**(1): p. 41-46.
306. Tokumasu, F. and Dvorak, J., *Development and application of quantum dots for immunocytochemistry of human erythrocytes*. *Journal of Microscopy-Oxford*, 2003. **211**: p. 256-261.
307. Tokumasu, F., Fairhurst, R. M., Ostera, G. R., Brittain, N. J., Hwang, J., Wellems, T. E., and Dvorak, J. A., *Band 3 modifications in Plasmodium falciparum-infected AA and CC erythrocytes assayed by autocorrelation analysis using quantum dots*. *Journal of Cell Science*, 2005. **118**(5): p. 1091-1098.
308. Sukhanova, A., et al., *Biocompatible fluorescent nanocrystals for immunolabeling of membrane proteins and cells*. *Analytical Biochemistry*, 2004. **324**(1): p. 60-67.

309. Wang, H. Q., Wang, J. H., Li, Y. Q., Li, X. Q., Liu, T. C., Huang, Z. L., and Zhao, Y. D., *Multi-color encoding of polystyrene microbeads with CdSe/ZnS quantum dots and its application in immunoassay*. Journal of Colloid and Interface Science, 2007. **316**(2): p. 622-627.
310. Dahan, M., Laurence, T., Pinaud, F., Chemla, D. S., Alivisatos, A. P., Sauer, M., and Weiss, S., *Time-gated biological imaging by use of colloidal quantum dots*. Optics Letters, 2001. **26**(11): p. 825-827.
311. Grecco, H. E., et al., *Ensemble and Single Particle Photophysical Properties (Two-Photon Excitation, Anisotropy, FRET, Lifetime, Spectral Conversion) of Commercial Quantum Dots in Solution and in Live Cells*. Microscopy Research and Technique, 2004. **65**: p. 169-179.
312. Schlegel, G., Bohnenberger, J., Potapova, I., and Mews, A., *Fluorescence decay time of single semiconductor nanocrystals*. Physical Review Letters, 2002. **88**(13): p. -.
313. Zhang, K., Chang, H. Y., Fu, A. H., Alivisatos, A. P., and Yang, H., *Continuous distribution of emission states from single CdSe/ZnS quantum dots*. Nano Letters, 2006. **6**(4): p. 843-847.
314. Grabolle, M., Kapusta, P., Nann, T., Shu, X., Ziegler, J., and Resch-Genger, U., *Fluorescence Lifetime Multiplexing with Nanocrystals and Organic Labels*. Analytical Chemistry, 2009. **81**(18): p. 7807-7813.
315. Giraud, G., et al., *Fluorescence Lifetime Imaging of Quantum Dot Labeled DNA Microarrays*. International Journal of Molecular Sciences, 2009. **10**(4): p. 1930-1941.
316. Huang, X. H., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., and El-Sayed, M. A., *Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostic and therapy*. Nanomedicine, 2007. **2**(5): p. 681-693.
317. Tkachenko, A. G., et al., *Cellular trajectories of peptide-modified gold particle complexes: Comparison of nuclear localization signals and peptide transduction domains*. Bioconjugate Chemistry, 2004. **15**(3): p. 482-490.
318. Sonnichsen, C., Franzl, T., Wilk, T., von Plessen, G., and Feldmann, J., *Plasmon resonances in large noble-metal clusters*. New Journal of Physics, 2002. **4**: p. -.
319. Jin, R. C., Cao, Y. W., Mirkin, C. A., Kelly, K. L., Schatz, G. C., and Zheng, J. G., *Photoinduced conversion of silver nanospheres to nanoprisms*. Science, 2001. **294**(5548): p. 1901-1903.
320. Boyer, D., Tamarat, P., Maali, A., Lounis, B., and Orrit, M., *Photothermal imaging of nanometer-sized metal particles among scatterers*. Science, 2002. **297**(5584): p. 1160-1163.
321. Berciaud, S., Cognet, L., Blab, G. A., and Lounis, B., *Photothermal heterodyne imaging of individual nonfluorescent nanoclusters and nanocrystals*. Physical Review Letters, 2004. **93**(25): p. -.
322. Mallidi, S., Larson, T., Aaron, J., Sokolov, K., and Emelianov, S., *Molecular specific optoacoustic imaging with plasmonic nanoparticles*. Optics Express, 2007. **15**(11): p. 6583-6588.
323. Kim, K., et al., *Photoacoustic imaging of early inflammatory response using gold nanorods*. Applied Physics Letters, 2007. **90**(22): p. -.

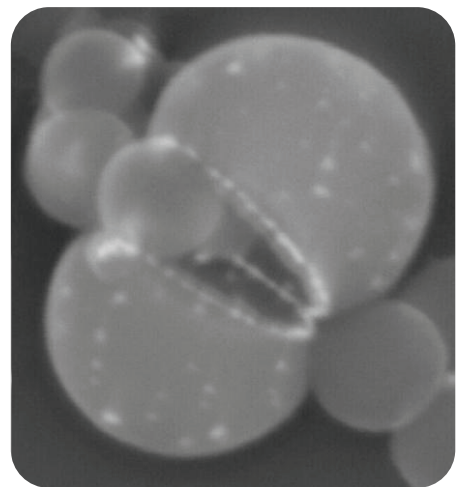
324. Roth, J., *The silver anniversary of gold: 25 years of the colloidal gold marker system for immunocytochemistry and histochemistry*. Histochemistry and Cell Biology, 1996. **106**(1): p. 1-8.
325. Hainfeld, J. F., Slatkin, D. N., Focella, T. M., and Smilowitz, H. M., *Gold nanoparticles: a new X-ray contrast agent*. British Journal of Radiology, 2006. **79**(939): p. 248-253.
326. Feczko, T., Muskotal, A., Gal, L., Szepvolgyi, J., Sebestyen, A., and Vonderviszt, F., *Synthesis of Ni-Zn ferrite nanoparticles in radiofrequency thermal plasma reactor and their use for purification of histidine-tagged proteins*. Journal of Nanoparticle Research, 2008. **10**: p. 227-232.
327. Liberti, P. A., Rao, C. G., and Terstappen, L. W. M. M., *Optimization of ferrofluids and protocols for the enrichment of breast tumor cells in blood*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2001. **225**(1-2): p. 301-307.
328. Zigeuner, R. E., Riesenberger, R., Pohla, H., Hofstetter, A., and Oberneder, R., *Isolation of circulating cancer cells from whole blood by immunomagnetic cell enrichment and unenriched immunocytochemistry in vitro*. Journal of Urology, 2003. **169**(2): p. 701-705.
329. Kularatne, B. Y., Lorigan, P., Browne, S., Suvarna, S. K., Smith, N. O., and Lawry, J., *Monitoring tumour cells in the peripheral blood of small cell lung cancer patients*. Cytometry, 2002. **50**(3): p. 160-167.
330. Tibbe, A. G. J., de Grooth, B. G., Greve, J., Liberti, P. A., Dolan, G. J., and Terstappen, L. W. M. M., *Optical tracking and detection of immunomagnetically selected and aligned cells*. Nature Biotechnology, 1999. **17**(12): p. 1210-1213.
331. Mura, C. V., Becker, M. L., Orellana, A., and Wolff, D., *Immunopurification of Golgi vesicles by magnetic sorting*. Journal of Immunological Methods, 2002. **260**(1-2): p. 263-271.
332. Morisada, S., Miyata, N., and Iwahori, K., *Immunomagnetic separation of scum-forming bacteria using polyclonal antibody that recognizes mycolic acids*. Journal of Microbiological Methods, 2002. **51**(2): p. 141-148.
333. Gu, H. W., Ho, P. L., Tsang, K. W. T., Yu, C. W., and Xu, B., *Using biofunctional magnetic nanoparticles to capture Gram-negative bacteria at an ultra-low concentration*. Chemical Communications, 2003(15): p. 1966-1967.
334. Gu, H. W., Ho, P. L., Tsang, K. W. T., Wang, L., and Xu, B., *Using biofunctional magnetic nanoparticles to capture vancomycin-resistant enterococci and other gram-positive bacteria at ultralow concentration*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(51): p. 15702-15703.
335. Cho, E. J., Jung, S., Lee, K., Lee, H. J., Nam, K. C., and Bae, H. J., *Fluorescent receptor-immobilized silica-coated magnetic nanoparticles as a general binding agent for histidine-tagged proteins*. Chemical Communications, 2010. **46**(35): p. 6557-6559.
336. Gijs, M. A. M., *Magnetic bead handling on-chip: new opportunities for analytical applications*. Microfluidics and Nanofluidics, 2004. **1**(1): p. 22-40.
337. Kriz, C. B., Rådevik, K., and Kriz, D., *Magnetic Permeability Measurements in Bioanalysis and Biosensors*. Analytical Chemistry, 1996. **68**(11): p. 1966-1970.
338. Larsson, K., Kriz, K., and Kriz, D., *Magnetic transducers in biosensors and bioassays*. Analysis, 1999. **27**(7): p. 617-621.

339. Baibich, M. N., et al., *Giant Magnetoresistance of (001)Fe/(001) Cr Magnetic Superlattices*. Physical Review Letters, 1988. **61**(21): p. 2472-2475.
340. Dieny, B., Speriosu, V. S., Metin, S., Parkin, S. S. P., Gurney, B. A., Baumgart, P., and Wilhoit, D. R., *Magnetotransport Properties of Magnetically Soft Spin-Valve Structures*. Journal of Applied Physics, 1991. **69**(8): p. 4774-4779.
341. Freitas, P. P., Silva, F., Oliveira, N. J., Melo, L. V., Costa, L., and Almeida, N., *Spin valve sensors*. Sensors and Actuators a-Physical, 2000. **81**(1-3): p. 2-8.
342. Tondra, M., Porter, M., and Lipert, R. J., *Model for detection of immobilized superparamagnetic nanosphere assay labels using giant magnetoresistive sensors*. Journal of Vacuum Science & Technology a-Vacuum Surfaces and Films, 2000. **18**(4): p. 1125-1129.
343. Li, G. X. and Wang, S. X., *Analytical and micromagnetic modeling for detection of a single magnetic microbead or nanobead by spin valve sensors*. Ieee Transactions on Magnetics, 2003. **39**(5): p. 3313-3315.
344. Germano, J., Martins, V. C., Cardoso, F. A., Almeida, T. M., Sousa, L., Freitas, P. P., and Piedade, M. S., *A Portable and Autonomous Magnetic Detection Platform for Biosensing*. Sensors, 2009. **9**(6): p. 4119-4137.
345. Besse, P. A., Boero, G., Demierre, M., Pott, V., and Popovic, R., *Detection of a single magnetic microbead using a miniaturized silicon Hall sensor*. Applied Physics Letters, 2002. **80**(22): p. 4199-4201.
346. Ejsing, L., Hansen, M. F., Menon, A. K., Ferreira, H. A., Graham, D. L., and Freitas, P. P., *Planar Hall effect sensor for magnetic micro- and nanobead detection*. Applied Physics Letters, 2004. **84**(23): p. 4729-4731.
347. Raschke, G., et al., *Biomolecular recognition based on single gold nanoparticle light scattering*. Nano Letters, 2003. **3**(7): p. 935-938.
348. Jain, P. K., Eustis, S., and El-Sayed, M. A., *Plasmon coupling in nanorod assemblies: Optical absorption, discrete dipole approximation simulation, and exciton-coupling model*. Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(37): p. 18243-18253.
349. Mirkin, C. A., Letsinger, R. L., Mucic, R. C., and Storhoff, J. J., *A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials*. Nature, 1996. **382**(6592): p. 607-609.
350. Elghanian, R., Storhoff, J. J., Mucic, R. C., Letsinger, R. L., and Mirkin, C. A., *Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles*. Science, 1997. **277**(5329): p. 1078-1081.
351. Moller, R. and Fritzsche, W., *Metal nanoparticle-based detection for DNA analysis*. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2007. **8**(5): p. 274-285.
352. Nam, J. M., Stoeva, S. I., and Mirkin, C. A., *Bio-bar-code-based DNA detection with PCR-like sensitivity*. Journal of the American Chemical Society, 2004. **126**(19): p. 5932-5933.
353. Liu, J. and Lu, Y., *Colorimetric Cu²⁺ detection with a ligation DNAzyme and nanopairticles*. Chemical Communications, 2007(46): p. 4872-4874.
354. Zhao, W. A., et al., *DNA aptamer folding on gold nanoparticles: From colloid chemistry to biosensors*. Journal of the American Chemical Society, 2008. **130**(11): p. 3610-3618.

355. Wang, W. J., Chen, C. L., Qian, M. X., and Zhao, X. S., *Aptamer biosensor for protein detection using gold nanoparticles*. Analytical Biochemistry, 2008. **373**(2): p. 213-219.
356. Dulkeith, E., Ringler, M., Klar, T. A., Feldmann, J., Javier, A. M., and Parak, W. J., *Gold nanoparticles quench fluorescence by phase induced radiative rate suppression*. Nano Letters, 2005. **5**(4): p. 585-589.
357. Dulkeith, E., et al., *Fluorescence quenching of dye molecules near gold nanoparticles: Radiative and nonradiative effects*. Physical Review Letters, 2002. **89**(20): p. -.
358. Demers, L. M., Mirkin, C. A., Mucic, R. C., Reynolds, R. A., Letsinger, R. L., Elghanian, R., and Viswanadham, G., *A fluorescence-based method for determining the surface coverage and hybridization efficiency of thiol-capped oligonucleotides bound to gold thin films and nanoparticles*. Analytical Chemistry, 2000. **72**(22): p. 5535-5541.
359. Oh, E., Hong, M. Y., Lee, D., Nam, S. H., Yoon, H. C., and Kim, H. S., *Inhibition assay of biomolecules based on fluorescence resonance energy transfer (FRET) between quantum dots and gold nanoparticles*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(10): p. 3270-3271.
360. Dubertret, B., Calame, M., and Libchaber, A. J., *Single-mismatch detection using gold-quenched fluorescent oligonucleotides*. Nature Biotechnology, 2001. **19**(4): p. 365-370.
361. Wang, Z. X., Kanaras, A. G., Bates, A. D., Cosstick, R., and Brust, M., *Enzymatic DNA processing on gold nanoparticles*. Journal of Materials Chemistry, 2004. **14**(4): p. 578-580.
362. Ray, P. C., Darbha, G. K., Ray, A., Walker, J., and Hardy, W., *Gold nanoparticle based FRET for DNA detection*. Plasmonics, 2007. **2**(4): p. 173-183.
363. Aslan, K., Gryczynski, I., Malicka, J., Matveeva, E., Lakowicz, J. R., and Geddes, C. D., *Metal-enhanced fluorescence: an emerging tool in biotechnology*. Current Opinion in Biotechnology, 2005. **16**(1): p. 55-62.
364. Lakowicz, J. R., *Plasmonics in biology and plasmon-controlled fluorescence*. Plasmonics, 2006. **1**(1): p. 5-33.

Capítulo 2

Nanocompósitos de Ouro- polímero



Índice

2.1. Introdução	99
2.2. Resultados e discussão	102
Síntese e modificação superficial de NPs de Au	102
Nanocompósitos de Au - Polímero	106
2.3. Conclusões	121
2.4. Referências	122

O estudo das propriedades de NPs de ouro é um dos mais importantes temas em nanociência e nanotecnologia. As propriedades singulares destas NPs apresentam uma estreita relação com o tamanho, morfologia, arranjo espacial e propriedades dieléctricas do meio circundante. Neste capítulo, é reportada a preparação de compósitos utilizando miniemulsões de poli(acrilato de butilo) e poli(estireno) contendo NPs de ouro revestidas com moléculas orgânicas. As propriedades ópticas destas estruturas híbridas são dominadas por efeitos plasmónicos e dependem de uma forma crítica na morfologia final do nanocompósito. Em particular, demonstra-se aqui a possibilidade de ajustar a resposta óptica, na região do visível do espectro, através do arranjo das NPs na matriz polimérica, e consequentemente o acoplamento plasmónico, utilizando NPs resultantes do mesmo lote de síntese. Esta resposta é consequência de dois efeitos conhecidos do comportamento óptico de NPs metálicas: a variação do índice de refração do meio dieléctrico circundante e o acoplamento plasmónico interpartícula. Na generalidade, é reportada aqui uma estratégia alternativa para alterar a resposta óptica de nanocompósitos, através do controlo da morfologia do compósito final, em alternativa à mais comum estratégia de modificar as características morfológicas das NPs metálicas utilizadas.

2.1. Introdução

O estudo das propriedades de NPs de ouro é um dos mais importantes temas em nanociência e nanotecnologia. As NPs de ouro apresentam propriedades ópticas, electrónicas, químicas e magnéticas únicas que têm sido exploradas em diversas aplicações [1, 2]. As propriedades singulares destas NPs apresentam uma estreita relação com o tamanho, morfologia, arranjo espacial e propriedades dieléctricas do meio circundante.

Desde os estudos pioneiros de Michael Faraday em 1857 com coloides de ouro, que é sabido que as propriedades ópticas dependem intimamente do tamanho e forma das NPs [3]. Mais tarde, os estudos realizados por Mie permitiram a resolução das equações de Maxwell para a extinção e dispersão de radiação electromagnética por pequenas esferas dispersas num meio dieléctrico [4]. Desde então, uma miríade de nanoestruturas de ouro com várias morfologias foram reportadas, nas quais a absorção óptica é ajustada [5-9]. Isto é resultado de variações na chamada frequência de plasmão de superfície (SPR), isto

é, a frequência à qual os electrões da banda de condução do metal oscilam em resposta ao campo eléctrico alternado da radiação electromagnética incidente [10]. Para metais de reduzidas dimensões, os efeitos de interface e de superfície tornam-se muito importantes e as propriedades ópticas das NPs são dominadas pela oscilação colectiva dos electrões de condução em ressonância com a radiação electromagnética incidente [11, 12]. A posição espectral e intensidade desta frequência é dependente do tamanho e forma das NPs [7, 8, 13, 14]. A resposta óptica também depende de outros parâmetros, tais como: a função dieléctrica do meio circundante [15-18] e da distância entre NPs vizinhas [19-21], que por sua vez determina o acoplamento plasmónico interpartícula. O ajuste criterioso destes parâmetros pode permitir que as propriedades ópticas destas nanoestruturas possam ser manipuladas.

Os compósitos NPs-Polímero apresentam propriedades que emergem do componente inorgânico conjugadas com as propriedades físicas e químicas da matriz polimérica, que permite por exemplo, o processamento a condições de temperatura suaves e com um comportamento mecânico ajustado à função. O arranjo dos componentes inorgânicos na matriz polimérica poderá originar novas propriedades colectivas. Com este objectivo uma grande variedade de nanocompósitos contendo metais, óxidos metálicos ou sulfuretos tem sido reportada na literatura. Vários exemplos poderão ser encontrados em vários artigos de revisão, incluindo métodos de síntese *in situ* de NPs metálicas em matrizes poliméricas [22], preparação de nanocompósitos activos opticamente [23], NPs inorgânicas funcionais em polímeros transparentes [24], aspectos fundamentais na preparação e processamento de nanocompósitos poliméricos [25] e vários métodos químicos para obter nanocompósitos que sejam passíveis de reagir a estímulos externos, como por exemplo, magnéticos ou ópticos [26-28].

Embora possa ser encontrada uma grande variedade de publicações descrevendo os efeitos ópticos que resultam do controle morfológico de nanoestruturas de ouro, existe um grande interesse em desenvolver novas plataformas almejando a produção de novos dispositivos [1]. Por exemplo, recentemente foi demonstrado um método para integrar NPs coloidais de ouro em heteroestruturas de nitretos dos grupos III/V, isto é, InGaN/GaN

com múltiplos poços quânticos que são a base de dispositivos emissores de luz nas regiões visível e ultravioleta do espectro, associando assim as abordagens “*bottom-up*” e “*top-down*” para a produção de nanoestruturas híbridas multifuncionais [29]. A associação de materiais flexíveis, tal como polímeros processados a baixas temperaturas e nanoestruturas de ouro, constituem um passo em frente na miniaturização dos dispositivos.

Neste capítulo, é reportada a preparação de compósitos utilizando miniemulsões de poli(acrilato de *tert*-butilo) PtBA e poli(estireno) PSt, contendo NPs de ouro revestidas com moléculas orgânicas. As propriedades ópticas destas estruturas híbridas são dominadas por efeitos plasmónicos e dependem de uma forma crítica na morfologia final do nanocompósito. Em particular, demonstra-se aqui a possibilidade de ajustar a resposta óptica, na região do visível do espectro, através do arranjo das NPs na matriz polimérica, e consequentemente o acoplamento plasmónico, utilizando NPs resultantes do mesmo lote de síntese. Esta resposta é consequência de dois efeitos conhecidos das propriedades ópticas de NPs metálicas: a variação do índice de refração (n) do meio dieléctrico circundante e o acoplamento plasmónico interpartícula. Na generalidade, é reportada aqui uma estratégia alternativa para alterar a resposta óptica de nanocompósitos através do controlo da morfologia do compósito final em alternativa à mais comum estratégia de modificar as características morfológicas das NPs metálicas utilizadas.

2.2. Resultados e discussão

Síntese e modificação superficial de NPs de Au

Para obter cristais nanométricos de Au revestidos com moléculas orgânicas, o sal complexo de ouro (HAuCl_4) foi reduzido a ouro metálico a uma temperatura de 120°C por acção de etileno glicol na presença de solventes orgânicos. O etileno glicol actua quer como solvente quer como agente redutor. É sabido que a redução de sais metálicos em poliálcoois líquidos ocorre através da oxidação de acetaldeído a diacetilo; acetaldeído que é produzido pela desidratação do etileno glicol a temperaturas elevadas [30, 31].

Neste trabalho, o método poliol foi adaptado preparando a mistura de sais de ouro em etilenoglicol, mistura essa que é depois injectada numa mistura de trioctilamina (TOA) e oleilamina (OA) a 120°C . Esta mistura de solventes orgânicos permite um crescimento contínuo das sementes metálicas geradas imediatamente após a injeção dos reagentes e portanto, a formação de partículas nanométricas de morfologia controlada, como se pode observar na Figura 2.1.

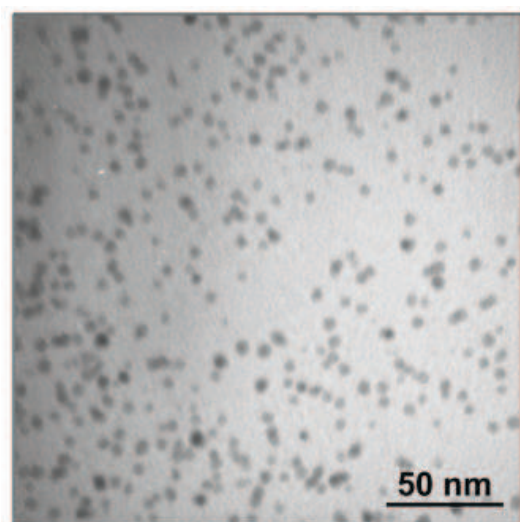


Figura 2.1. Imagem de microscopia de transmissão de nanopartículas de ouro.

Neste caso, o diâmetro médio determinado por DLS é de $6.9 \pm 1.1\text{ nm}$ para as NPs no coloide, quando comparado com o valor de $5.1 \pm 1.1\text{ nm}$ para as NPs de ouro depositadas numa grelha de cobre e depois observadas por TEM (Figura 2.2).

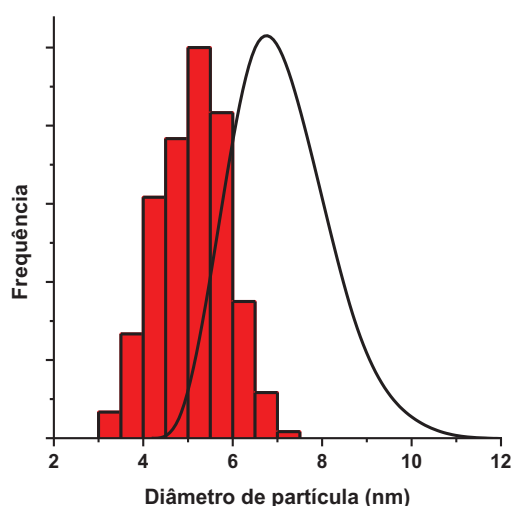


Figura 2.2. Histograma da distribuição de tamanhos: TEM em gráfico de barras e DLS em gráfico de linha.

Esta discrepância de valores é devida ao facto de que, pela técnica de DLS mede-se o diâmetro hidrodinâmico, que tem em conta, para além do diâmetro da partícula, a camada exterior que é composta pelas moléculas de cadeia longa (TOA e OA), coordenadas na superfície do núcleo inorgânico.

De facto, pela estratégia de síntese anterior, as NPs de Au encontram-se revestidas com moléculas de TOA e OA que previnem não só a sua coalescência mas também tornam estas NPs facilmente dispersáveis em solventes apolares. Para além disso, é possível substituir estas moléculas por outras moléculas orgânicas (tensioactivas) sem comprometer a integridade morfológica do núcleo metálico. Por exemplo, o tratamento destas NPs com TOPO (substituição de TOA/OA por TOPO) não origina uma modificação significativa da morfologia das NPs, como pode ser observado por análise da imagem de microscopia de transmissão obtida (Figura 2.3). Neste caso o diâmetro médio observado é de 5.9 ± 0.9 nm, valor obtido da análise das imagens de TEM.

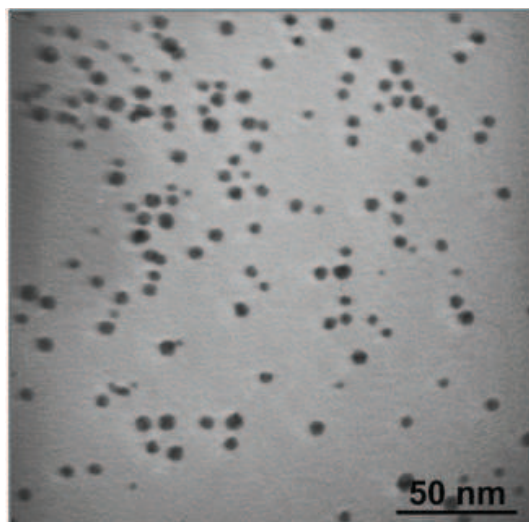


Figura 2.3. Imagem de microscopia de transmissão de nanopartículas de ouro, após substituição das moléculas tensioactivas por TOPO.

A presença destas moléculas orgânicas na superfície das NPs pode ser confirmada por espectroscopia de IV (FTIR) dos pós obtidos após a lavagem das NPs para remover o excesso de moléculas de estabilizantes (Figura 2.4). As bandas características das cadeias alifáticas das moléculas de TOA e OA, correspondentes às vibrações de alongação dos grupos (C-H) das cadeias alifáticas são observadas no espectro IV das NPs, na gama de $2980\text{-}2830\text{ cm}^{-1}$. No entanto, uma análise mais detalhada do espectro de FTIR das NPs de Au, revela a presença do grupo (C=N-H), devido ao aparecimento de três bandas que não existiam nos espectros das moléculas de OA/TOA isoladas. A primeira banda é atribuída à vibração de alongação do grupo (=N-H) e aparece a 3326 cm^{-1} , uma segunda vibração de alongação do grupo (C=N) a 1650 cm^{-1} e finalmente a uma banda relacionada com a deformação angular (C=N-H) a 1571 cm^{-1} [32]. A presença do grupo (C=N-H) é indicativa da formação de iminas alifáticas a partir das moléculas de oleilamina. De facto, a formação de iminas e até de nitrilos alifáticos ($\text{R-C}\equiv\text{N}$), por reacção de amins primárias, como por exemplo oleilamina, com sais de Ag(I) , tem sido reportado [32]. Esta ideia é reforçada pelo desaparecimento da banda relacionada com a contribuição conjunta das vibrações de deformação angular e do movimento de deformação de tesoura, do grupo (NH_2) a 1706 cm^{-1} observada no espectro da oleilamina (OA). A formação de nitrilos alifáticos, demonstrada na presença de nitrato de prata a elevadas temperaturas [32], não se observa neste caso. As moléculas de imina alifáticas (R-C=N-H) coordenam à

superfície do metal através do par de electrões não-ligante (no átomo de N) e/ou através dos electrões π da ligação dupla (R-C=N-H) [32].

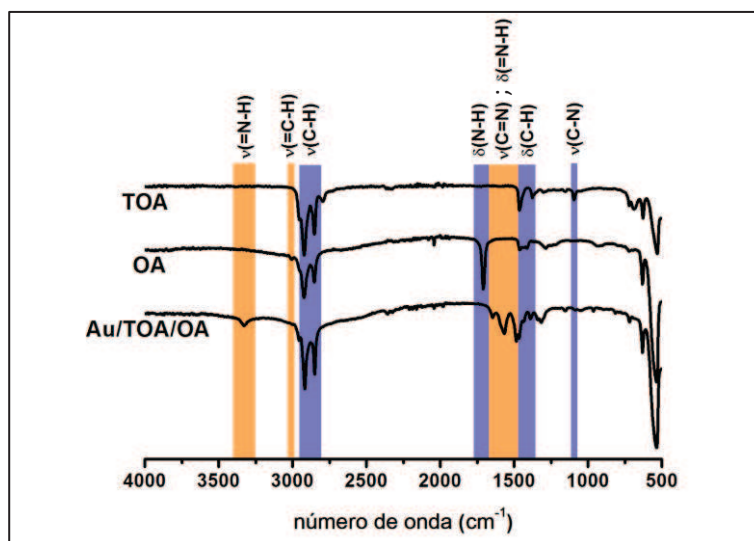


Figura 2.4. Espectro de FTIR das NPs de Au revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.

A banda observada ao comprimento de onda de 3006 cm^{-1} , de fraca intensidade, é atribuída à vibração de elongação (C-H) desta ligação adjacente à ligação dupla (-CH=), em conformação *cis*. No espectro das NPs de ouro, verifica-se o desaparecimento desta banda, no entanto, os dados não permitem afirmar que tenha ocorrido quer uma reacção com a ligação dupla, formando a molécula derivada saturada: octadecilamina, quer uma mudança de conformação da ligação dupla, para uma conformação *trans*. Este tipo de transformação está associado ao aparecimento de bandas relativas aos modos de vibração de elongação *trans* (-CH=) na região $3070\text{--}3020\text{ cm}^{-1}$ [33].

Relativamente à molécula de TOA, exceptuando a inexistência dos modos de vibração de deformação angular do grupo amina (NH_2) a 1706 cm^{-1} e a presença da vibração de elongação do grupo (C-N) a 1098 cm^{-1} , esta apresenta um espectro indistinguível do da OA, pelo que a presença desta molécula à superfície das NPs não pode ser confirmada por esta técnica.

O sucesso da reacção de substituição dos grupos TOA e OA por TOPO também pode ser verificado por FTIR. De salientar o desaparecimento das bandas relacionadas com as vibrações dos grupos característicos da oleilamina (ou imina correspondente) pelos

grupos funcionais do TOPO, em particular o aparecimento da vibração de alongação relativa ao grupo (P=O) a 1146 cm^{-1} . O aparecimento de uma banda larga centrada a 1000 cm^{-1} , poderá ser atribuída à coordenação da molécula de TOPO à superfície das NPs através do átomo de oxigénio do grupo (P=O) [34].

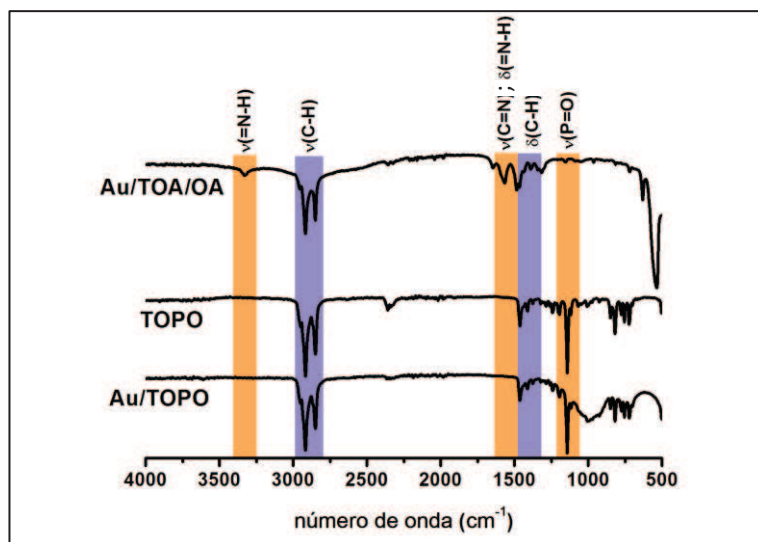


Figura 2.5. Espectros de FTIR das NPs de Au após substituição das moléculas à superfície.

Nanocompósitos de Au - Polímero

Como foi discutido anteriormente, as moléculas de TOA/OA ou TOPO, formam um revestimento na superfície das NPs de ouro, tornando-as hidrofóbicas e portanto compatíveis com os monómeros de acrilato de *tert*-butilo ou de estireno.

De forma a capsular estas NPs numa matriz polimérica, foi utilizado um método de polimerização *in situ* por miniemulsão a partir de suspensões de NPs de ouro dispersas na fase orgânica (monómero). A formação de pequenas vesículas, ou gotas de monómero, é conseguida por mistura da fase orgânica contendo as NPs, com uma fase aquosa que contém um tensoactivo aniónico (neste caso, monododecilsulfato de sódio, SDS) e posterior tratamento por ultra-sons, de forma a diminuir e homogeneizar a distribuição de tamanhos das gotas. Estas pequenas gotas, cujo tamanho pode ser de 50-500 nm, funcionam como nanoreactores ocorrendo no seu interior a reacção de polimerização radicalar.

No caso dos nanocompósitos de NPs de Au, estabilizadas com TOA/OA, em matriz polimérica de acrilato de *tert*-butilo, uma primeira evidência da presença das NPs no nanocompósito polimérico final é a cor púrpura da suspensão aquosa, confirmada pela presença de uma banda de absorção centrada a 543 nm no espectro óptico do nanocompósito de Au/PtBA (Figura 2.6). Quando comparado com o espectro do coloide de Au original (Au/TOA/OA em tolueno, de cor vermelha) a banda de absorção é mais larga e encontra-se desviada para maiores comprimentos de onda ($\Delta\lambda = 28$ nm). Este alargamento da banda que se estende para maiores comprimentos de onda justifica a cor púrpura observada para a emulsão de Au/PtBA (Figura 2.6).

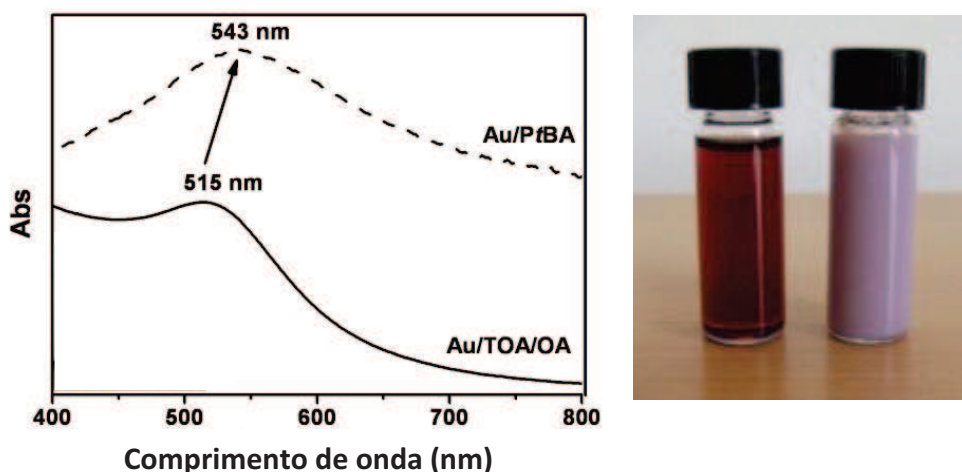


Figura 2.6. À esquerda, espectros no visível de pós de nanocompósito de Au/PtBA e de absorção do coloide de Au original, respectivamente. À direita, fotografia do coloide de ouro em tolueno (de cor vermelha rubi) e a emulsão de Au/PtBA (de cor púrpura).

A identidade química do nanocompósito de Au/PtBA foi confirmada por XRD e por espectroscopia de FTIR. Os picos observados no difractograma de XRD correspondem aos picos mais intensos da fase cúbica de faces centradas do ouro, 2θ : 38.3 (111) e 44.6 (200) (Figura 2.7). De notar que a menores ângulos de difracção são observados os picos atribuídos à matriz polimérica, que surgem mais intensos devido à quantidade reduzida de NPs de Au no compósito.

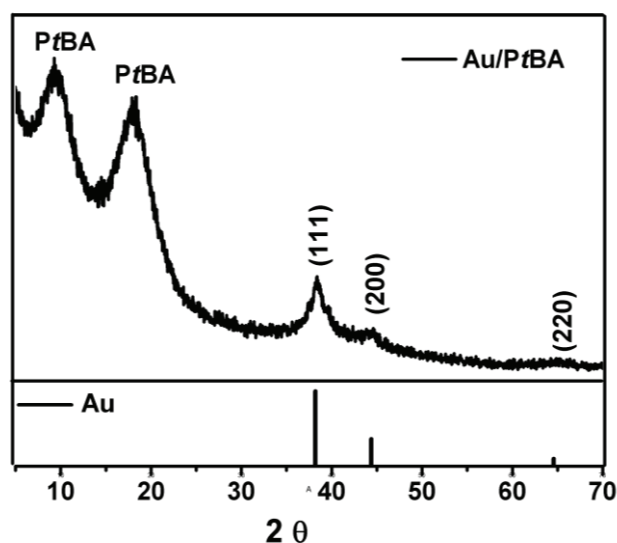


Figura 2.7. Difractograma de raios-X de pós do nanocompósito Au/PtBA.

O espectro de FTIR do nanocompósito apresenta exclusivamente as bandas características da matriz polimérica: PtBA, como assinalado na Figura 2.8.

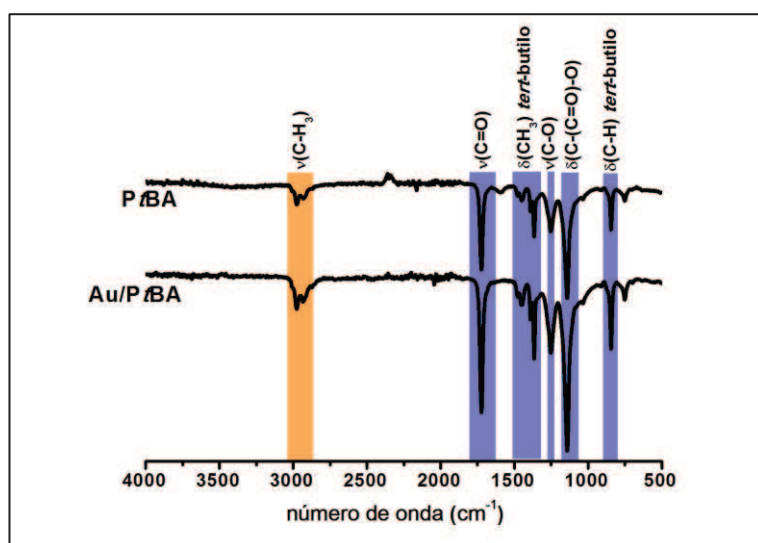


Figura 2.8. Espectros de FTIR dos nanocompósitos Au/PtBA e de PtBA puro.

Na Figura 2.9 são apresentadas as imagens de TEM dos nanocompósitos de Au/PtBA obtidos. As partículas nanocompósitas apresentam-se como estruturas esféricas cujas dimensões situam-se tipicamente na gama 300-500 nm. O contraste escuro observado nestes compósitos é indicativo que cada partícula é composta por um número elevado de NPs de ouro envolvidas homogeneamente por cadeias poliméricas, como detalhado na Figura 2.9, à direita.

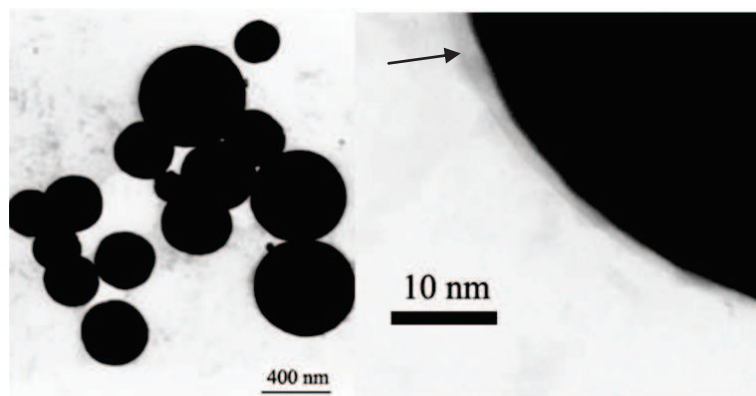


Figura 2.9. Imagens de TEM dos nanocompósitos de Au/PtBA. Na figura da direita assinala-se a presença de uma capa polimérica.

A presença de NPs de ouro no interior de cada partícula compósita foi confirmada de forma inequívoca por imagens de SEM e correspondente mapeamento por EDX (Figura 2.10).

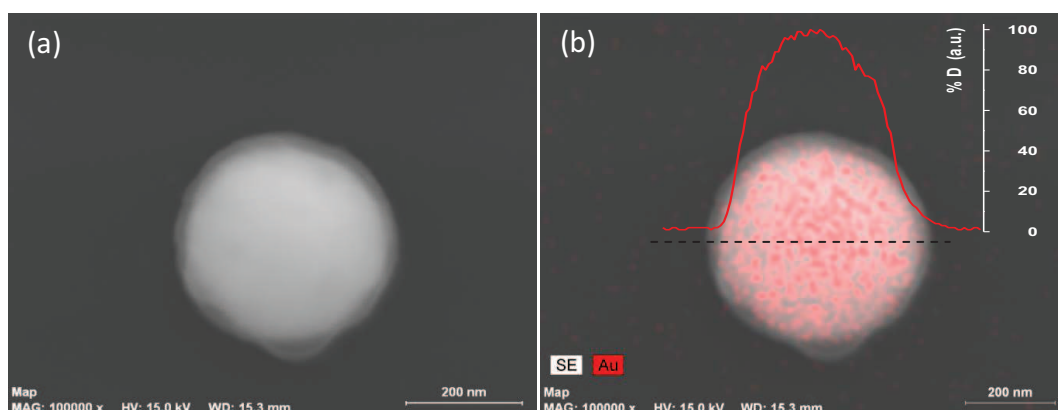


Figura 2.10. (a) Imagem de SEM e mapa de composição de EDX (b) do elemento Au (cor vermelha) em esferas de nanocompósito Au/PtBA. Correspondente distribuição do conteúdo de ouro ao longo de uma linha longitudinal próxima do centro da partícula compósita.

Apesar de o encapsulamento de NPs inorgânicas utilizando técnicas de polimerização por miniemulsão ter sido previamente reportado para QDs e partículas magnéticas revestidas por moléculas orgânicas [35-37], o presente sistema parece particularmente interessante porque cada partícula compósita pode conter um grande número de NPs no seu interior. O tamanho, concentração de NPs e a natureza das moléculas tensoactivas são factores que influenciam o encapsulamento na matriz polimérica. É evidente que neste trabalho, durante a polimerização em miniemulsão as NPs de ouro tendem a formar agregados dentro das matrizes poliméricas. Para o caso dos nanocompósitos de Au/PtBA, as NPs de ouro parecem estar homogeneamente distribuídas ao longo do volume do compósito

como pode ser observado pelas imagens de microscopia de cortes longitudinais da partícula compósita (Figura 2.11). Para além disso, as medidas de EDX da concentração de ouro realizadas ao longo de uma linha que passa cerca do meridiano de uma esfera de compósito mostram um aumento da quantidade de ouro ao longo do volume da esfera (Figura 2.10b), o que é compatível com uma distribuição homogênea de nanopartículas de ouro em oposição a uma estrutura oca.

De salientar que a morfologia dos agregados de NPs tem também um efeito surpreendente nas propriedades ópticas: a conservação da simetria esférica, provoca um desvio moderado da banda de SPR [38], enquanto o afastamento relativamente a esta morfologia, como por exemplo, as estruturas do tipo núcleo polimérico - coroa de NPs de ouro, apresentam um desvio acentuado do máximo da banda SPR, para maiores comprimentos de onda estendendo-se até a região IR do espectro óptico [6, 38, 39].

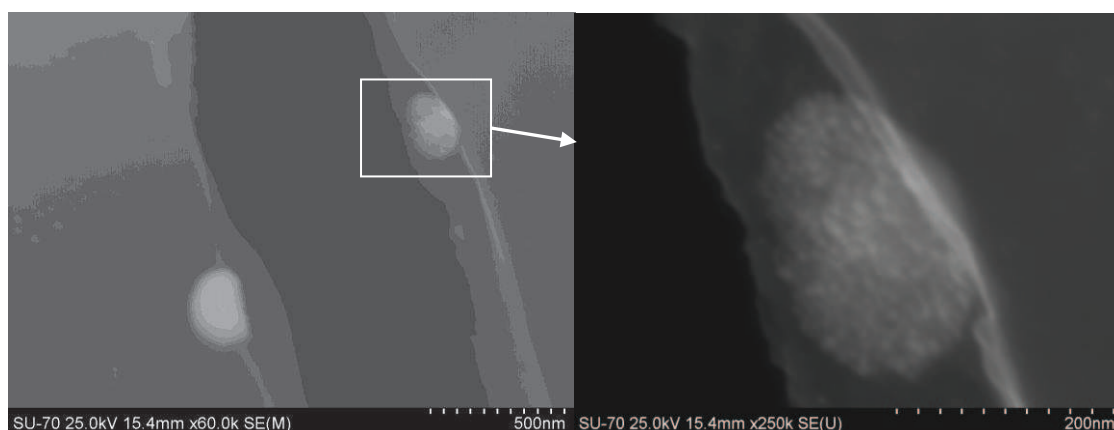


Figura 2.11. Imagem de SEM de uma partícula fracturada de compósito Au/PtBA, e vista em detalhe do corte longitudinal.

O tratamento térmico dos nanocompósitos poderá ajudar a esclarecer se a estrutura final se trata de um agregado esférico com uma distribuição extensiva das NPs no volume da partícula compósita ou um arranjo em camada das NPs, numa estrutura oca. Após tratamento térmico a 700° C durante 2h (temperatura suficiente para a decomposição térmica da matriz polimérica, com uma gradiente de 10° C/min) observa-se a formação de partículas micrométricas densas resultantes da sinterização das NPs (Figura 2.12). Não se observa a formação de partículas fracturadas, pelo que é pouco provável que as NPs se encontrem num arranjo em camadas na matriz polimérica, ou seja, numa estrutura

núcleo polimérico – coroa de NPs. O DRX de pós da amostra de compósito após o tratamento térmico mostra a existência de Au cristalino com pequena quantidade de sulfato e carbonato de sódio, resíduos da decomposição do polímero, dos estabilizantes e iniciadores.

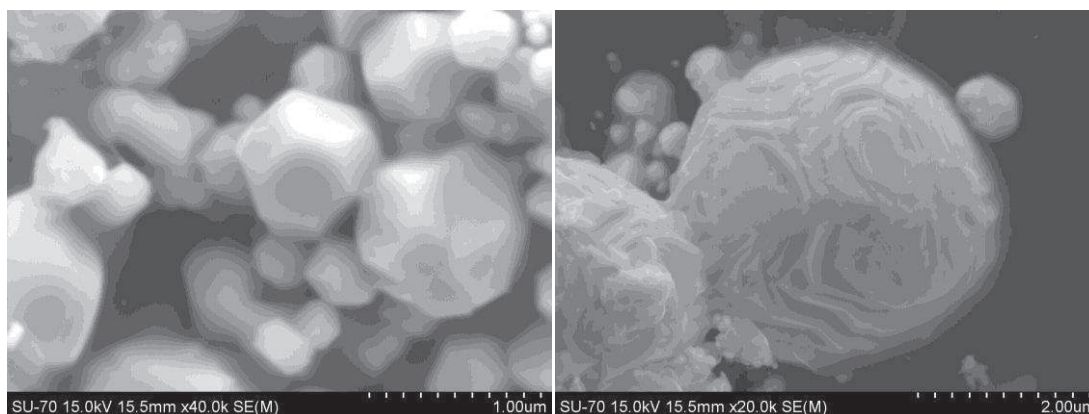


Figura 2.12. Imagens de SEM de partículas de Au/PtBA obtidas após tratamento térmico.

O teor de ouro presente nos nanocompósitos foi determinado por análise de ICP de amostras concentradas por um processo de centrifugação e lavagem exaustiva. Para o nanocompósito de Au/PtBA, o teor de ouro determinado aparenta ser subestimado, sendo o valor de 20,0 mg/g baixo tendo em conta o aparente elevado número de NPs de Au existentes em cada partícula de compósito. Este resultado pode ser justificado pela dificuldade de remover partículas de polímero livre.

Tabela 2.1. Teor de ouro determinado para os nanocompósitos.

Nanocompósito	Teor de Au (mg/g) ^a
Au/TOA/OA - PtBA	20,0
Au/TOA/OA - PST	8,17
Au/TOPO - PST	4,74

^a (determinado por ICP)

De notar que os resultados anteriores não nos permitem distinguir entre a agregação irreversível das NPs de Au nas partículas de polímero, da situação em que as NPs individualizadas se encontram envolvidas por cadeias poliméricas. A este respeito, é instrutivo comparar o espectro óptico do coloide de Au original com o espectro correspondente às NPs de Au dispersas na amostra compósita. A amostra compósita foi analisada por espectroscopia de UV/Vis e por microscopia electrónica (TEM) após

dissolução da matriz polimérica em tetrahydrofurano (THF). O THF dissolve selectivamente as cadeias poliméricas destruindo a estrutura de látex, mas mantém as NPs de Au intactas na solução.

A Figura 2.13 representa os espectros de UV/Vis do coloide de Au (em solução de tolueno) e das amostras de nanocompósito de Au/PtBA antes e após tratamento com THF, respectivamente. É evidente pela análise das propriedades ópticas (Figura 2.13) que o espectro de UV/Vis do nanocompósito após tratamento com THF se assemelha ao do coloide original de Au, com uma banda SPR centrada a 522 nm. Este resultado é consistente com a existência de NPs de Au encapsuladas na matriz polimérica de forma individualizada e que não sofreram uma alteração de morfologia significativa. De facto, a análise de TEM realizada na amostra tratada com THF confirma a presença de NPs de Au monodispersas (cujo diâmetro médio é de 6.5 ± 1.7 nm), de forma semelhante ao que tinha sido observado para as NPs de Au no coloide original. Também é observado um pequeno número de partículas de maiores dimensões o que poderá estar relacionado com reacções de troca na superfície das NPs, originando a coalescência durante a preparação das amostras para TEM.

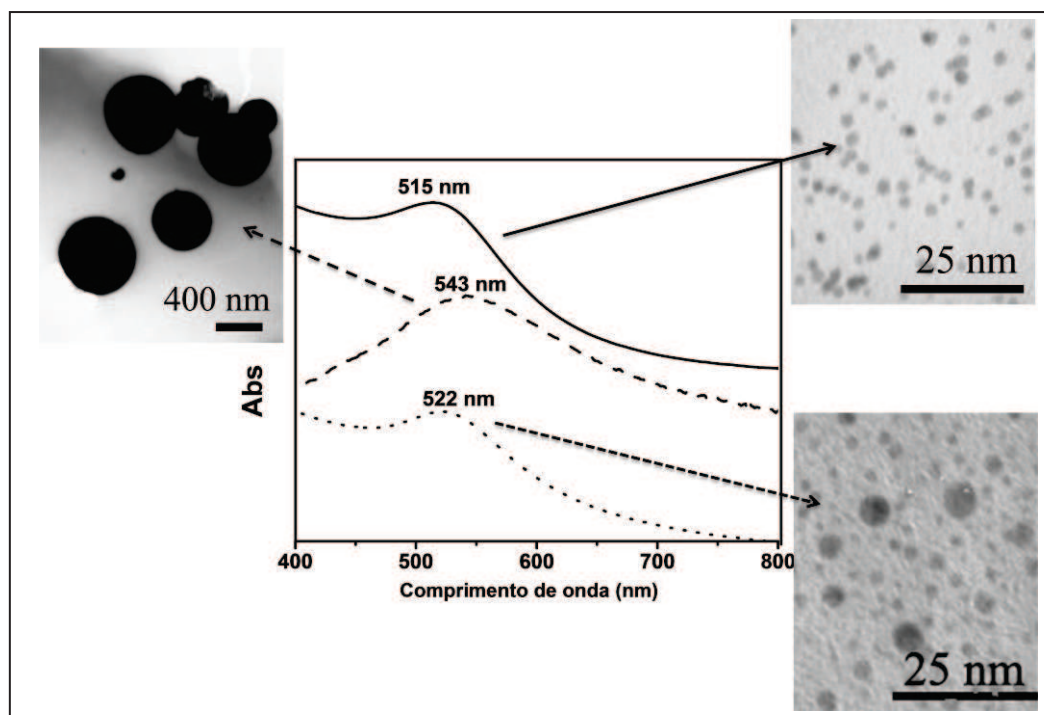


Figura 2.13. Espectros de UV-Vis e imagens de TEM correspondentes as NPs de Au (—) e ao nanocompósito de Au/PtBA antes (----) e após tratamento com THF (····).

Espera-se um acoplamento plasmónico significativo entre as NPs de Au na matriz polimérica para o caso em que as distâncias entre NPs são tipicamente da ordem do seu diâmetro, $D \leq 5R$, em que D é a distância entre NPs ($D_{\text{centro-a-centro}}$) e R é o raio das NPs. [38]. Assim, em virtude da Figura 2.6 não mostrar um efeito significativo de acoplamento, o espectro óptico obtido é consistente com uma dispersão extensiva das NPs de Au na matriz polimérica. Estas observações parecem reforçar a ideia que a distância entre partículas excede a distância necessária para ocorrer um acoplamento plasmónico significativo.

A distância média entre NPs de Au no interior das partículas compósitas foi estimada utilizando a técnica de dispersão de raios-X a baixos ângulos (SAXS). A SAXS é uma técnica de dispersão poderosa que permite obter informações sobre tamanho médio e distribuição de tamanhos de partículas, morfologia, orientação e distância média entre partículas, analisando a modulação da densidade electrónica até poucas dezenas de nm, através da análise da intensidade dos raios-X dispersos a um intervalo angular de cerca de 0.1 a 4°. Em contraste com a técnica de difracção de raios-X (XRD), a técnica de SAXS pode ser utilizada não só em materiais cristalinos mas também em materiais amorfos, polímeros e biomoléculas [40].

A função de distribuição de distâncias $\rho(r)$, é obtida através da determinação da transformada de Fourier inversa da intensidade $I(q)$ da radiação dispersa em função do vector da componente dispersiva da radiação: $q = 4\pi \sin \theta / \lambda$, em que θ é o ângulo de dispersão e λ é o comprimento de onda da radiação. A função de distribuição é obtida através de um processo iterativo utilizando o programa GNOM que faz parte do conjunto de programas ATSAS [41, 42]. Mais detalhes sobre o tratamento de resultados para a obtenção desta distribuição podem ser encontrados no capítulo experimental (capítulo 5). Analisando a função de distribuição de distâncias para o nanocompósito de Au/PtBA, representada na Figura 2.14, podemos verificar que a distância máxima entre NPs foi determinada como sendo $D_{\text{max}} = 28$ nm e a distância entre partículas ($D_{\text{centro-a-centro}}$) é em média de 12.4 nm (Figura 2.14).

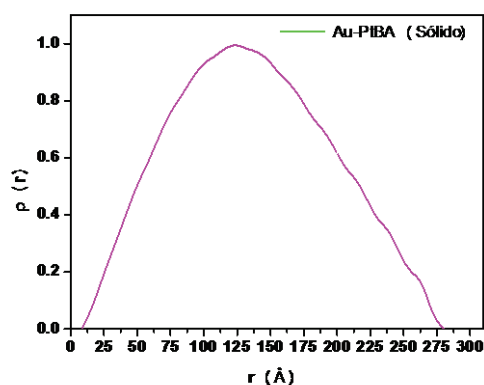


Figura 2.14. Função de distribuição de distâncias, $\rho(r)$ para os nanocompósitos Au-PtBA.

Esta separação média entre NPs (12.4 nm) situa-se no limiar para que o efeito do acoplamento electromagnético seja observado, neste caso, 12.8 nm, utilizando a relação $D \leq 5r$. É razoável afirmar que existem cadeias poliméricas móveis que englobam as NPs de Au, actuando como um espaçador dieléctrico, mantendo as NPs suficientemente afastadas de tal forma que o efeito do acoplamento do campo eléctrico entre NPs vizinhas seja reduzido [43].

As propriedades ópticas dos nanocompósitos de Au-polímero aqui descritos dependem também da morfologia do nanocompósito resultante e do tipo de arranjo das NPs de Au nas partículas de polímero. Os nanocompósitos de Poliestireno (PST) foram preparados utilizando NPs de Au/TOA/OA e foi também avaliado o efeito da modificação do revestimento orgânico, utilizando NPs de Au/TOPO, na dispersão na matriz polimérica durante o processo de miniemulsão.

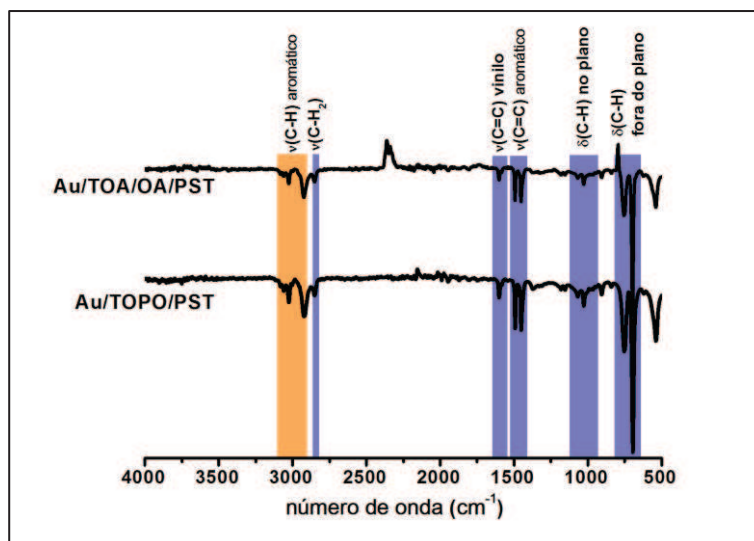


Figura 2.15. Espectros de FTIR dos nanocompósitos de Au/TOA/OA/PST e Au/TOPO/PST.

Recorrendo à análise de FTIR dos nanocompósitos obtidos não é possível distinguir os grupos característicos das moléculas estabilizantes (TOA, OA ou TOPO) das NPs e só são visíveis os grupos relativos à matriz polimérica (Figura 2.15).

A modificação da matriz polimérica origina uma alteração significativa da morfologia dos nanocompósitos formados. Na Figura 2.16 podemos observar as imagens de TEM dos nanocompósitos em que a matriz polimérica é PST e foram utilizadas NPs de Au revestidas com TOA/OA. As partículas de nanocompósito, apesar de manterem uma morfologia essencialmente esférica, apresentam-se neste caso na forma de uma calota decorada com NPs de Au na superfície, com uma secção côncava, delimitada por um anel de NPs de Au, da qual resulta uma morfologia do tipo *medusa* (“*nano-jelly fish*”).

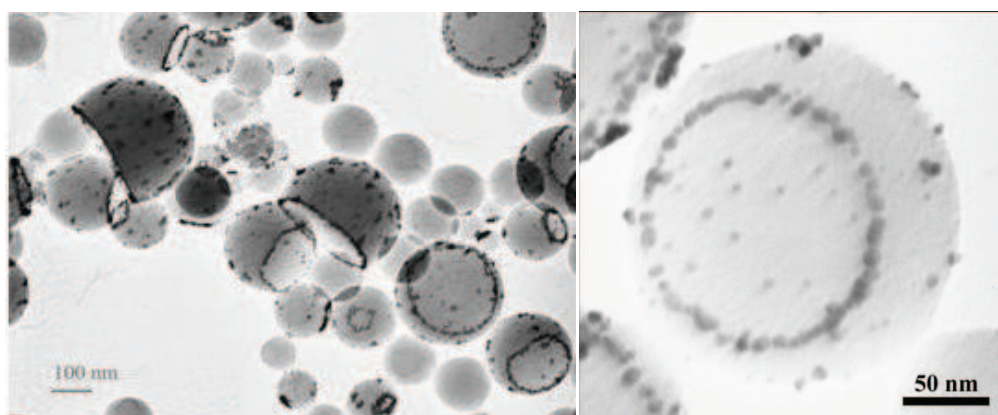


Figura 2.16. Imagens de TEM de (a) nanocompósitos de PST contendo NPs de Au/TOA/OA e (b) detalhe do arranjo em anel das NPs de Au.

Para estes nanocompósitos o efeito de acoplamento plasmónico entre partículas é evidente no espectro óptico (Figura 2.17), com o aparecimento de uma banda larga de absorção que se estende para a região do infravermelho próximo. Este comportamento está relacionado com o arranjo em “anel” das NPs de Au em que as distâncias entre partículas são da ordem do seu diâmetro, como pode ser verificado na imagem de TEM na Figura 2.16 b.

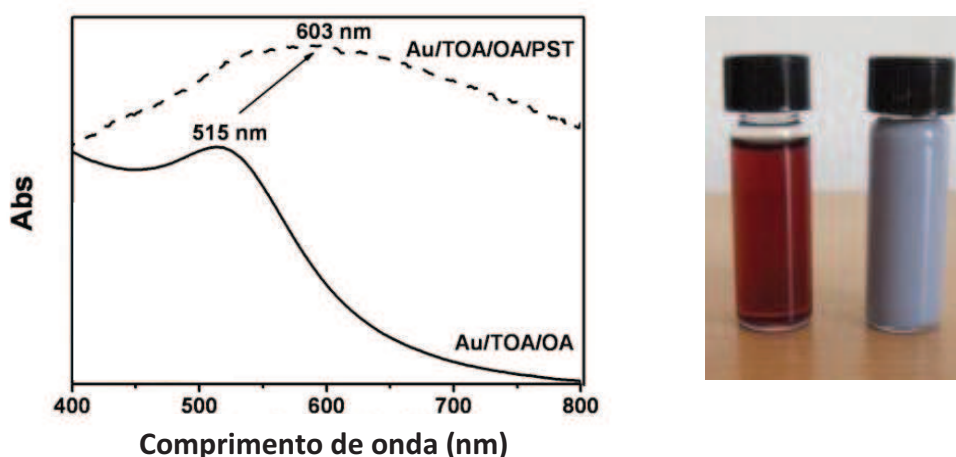


Figura 2.17. À esquerda, espectros no visível de nanocompósito de Au/PS e de absorção do coloide de Au original, respectivamente. À direita, fotografia do coloide de ouro em tolueno (de cor vermelha rubi) e a emulsão de Au/PS (de cor azul).

O arranjo de NPs de Au em cadeias lineares cuja separação entre NPs é da ordem do seu diâmetro origina uma interacção de acoplamento significativa e que pode ser decomposta em dois modos polarizados, nas direcções paralela e perpendicular ao eixo do anel [44]. Este tipo de resposta óptica pode ser simulado, considerando um arranjo em anel de NPs de Au como representado na Figura 2.18 [45].

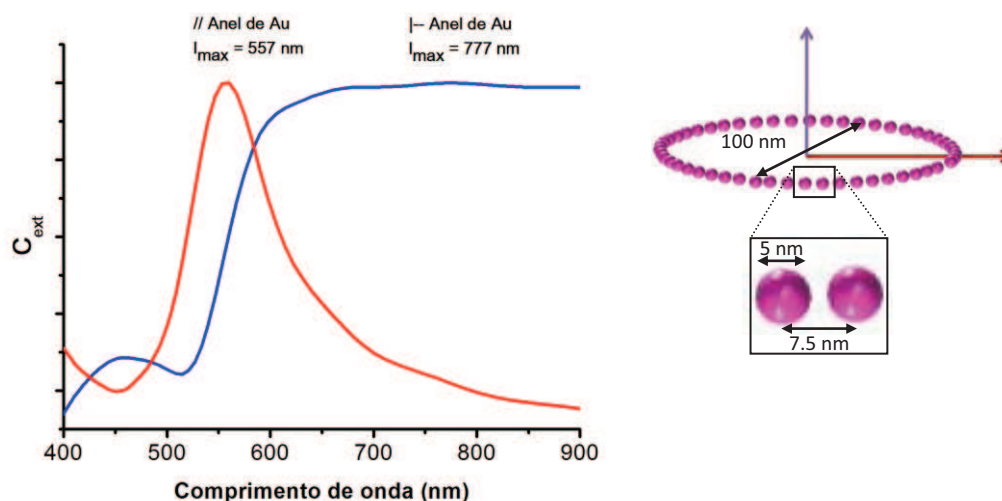


Figura 2.18. Simulação do espectro de extinção óptica para um arranjo em anel de NPs de Au [45], com diâmetro de partícula de 5 nm, dispostas em anel com um diâmetro de 100 nm. A separação entre partículas é igual a metade o diâmetro, isto é 2.5 nm.

A utilização de NPs de Au revestidas com TOPO em detrimento da mistura de tensioactivos originais (TOA/OA) provoca também uma alteração da morfologia (Figura 2.19). Os nanocompósitos de Au/TOPO com PST apresentam uma morfologia esférica com uma dispersão bastante extensiva das NPs na matriz polimérica. Este nanocompósito apresenta o teor mais reduzido de ouro (Tabela 2.1).

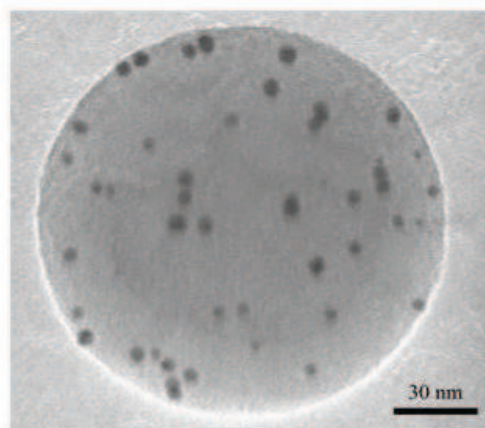


Figura 2.19. Imagem de TEM de nanocompósitos de PST contendo NPs de Au/TOPO.

Embora até ao momento não se possa antecipar o mecanismo que origina as morfologias observadas, é claro que estas dependem do tipo de interface que se estabelece entre as NPs de Au e o polímero. Em particular, salienta-se que as morfologias tipo *medusa* - “*nano-jelly fish*” (Figura 2.16) parecem resultar da presença de NPs de Au na interface dos

nanoreactores durante a polimerização. Embora a natureza do revestimento orgânico pareça influenciar o arranjo das NPs de Au no polímero, é razoável sugerir que as distintas morfologias observadas sejam também dependentes da temperatura de transição vítrea (T_g) da matriz polimérica.

O facto de a polimerização *in situ* ocorrer a temperaturas (ca. 70° C) bem acima da T_g do PtBA (43° C) mas significativamente inferiores à T_g do PST (117° C), tem certamente efeito na diferente dispersão das NPs de Au entre as cadeias poliméricas. Neste caso, a dispersão das NPs de Au nas partículas de polímero poderá ser facilitada no caso da polimerização com PtBA, o que está de acordo com a distribuição homogénea das NPs de Au, como foi observado nas Figuras 2.10 e 2.11.

Para o caso do nanocompósito de PST contendo NPs de Au/TOPO, a SPR está localizada a 541 nm, ou seja a um comprimento de onda próximo do que tinha sido observado para o nanocompósito de Au/PtBA. Note-se que apresenta um afastamento relativamente ao valor do coloide original semelhante ao observado para o nanocompósito de Au/PtBA ($\Delta\lambda = 22$ nm).

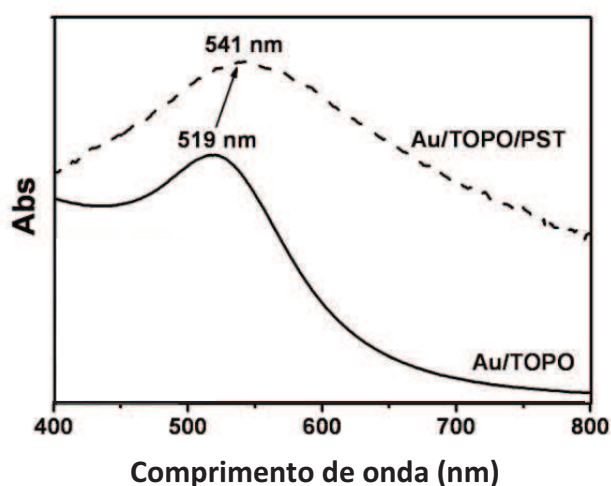


Figura 2.20. À esquerda, espectros de visível de pós de nanocompósito de Au/TOPO/PS e de absorção do coloide de Au/TOPO, respectivamente. À direita, fotografia do coloide de ouro em tolueno (de cor vermelha rubi) e a emulsão de Au/PtBA (de cor púrpura).

É sabido que o índice de refração do meio circundante, assim como a distância média entre NPs vizinhas de Au influenciam as características dos espectros ópticos de amostras que contem NPs de Au dispersas. Deste modo, o aumento do índice de refração do meio

circundante das NPs [20, 46, 47], assim como a diminuição da distância entre as partículas, originam um desvio para o vermelho da posição da banda SPR [18, 20, 21].

Uma propriedade interessante dos nanocompósitos aqui apresentados é a possibilidade de obter diferentes densidades de NPs de Au em cada partícula compósita, originando um ligeiro desvio para o vermelho ($\Delta\lambda = 28$ nm, para o nanocompósito de Au/PtBA e $\Delta\lambda = 22$ nm, para o nanocompósito de Au/TOPO/PST) da banda de absorção, quando comparada com o coloide de ouro original (Figuras 2.13 e 2.20).

Primeiro, faz-se notar que este desvio para maiores comprimentos de onda não pode ser atribuído à agregação irreversível das NPs de Au em partículas maiores, como foi demonstrado pela regeneração das NPs de Au iniciais após dissolução da matriz polimérica com THF. Por outro lado, a distância média entre as partículas, não pode por si só, justificar o desvio observado, já que para nanocompósitos com diferentes densidades de NPs, como por exemplo para os nanocompósitos de Au/PtBA (Figura 2.9) e Au/TOPO/PST (Figura 2.19), seriam de esperar desvios da banda SPR que reflectissem esta diferença.

Por outro lado, a variação do índice de refração do meio circundante das NPs de Au, poderá neste caso explicar o desvio da banda SPR para maiores valores de comprimento de onda. De facto, os espectros ópticos calculados para NPs esféricas de Au ($d = 7$ nm), circundadas em meios dieléctricos com valores crescentes do índice de refração, revelam desvios da banda SPR para maiores comprimentos de onda (Ver capítulo 1, Figura 1.16d). Os desvios observados para os nanocompósitos de Au/PtBA (Figura 2.9) e Au/TOPO/PST (Figura 2.19) são assim comparáveis com os desvios observados nos espectros ópticos calculados.

É possível que as variações observadas nas Figuras 2.13 e 2.20 possam também resultar dos diferentes modos de aquisição dos espectros, em modo de transmitância ou reflectância. Por exemplo, as emulsões micrométricas (cujas partículas possuem dimensões na ordem do comprimento de onda da radiação, $D \cong \lambda$) apresentam uma forte dispersão da luz, e consequentemente um aspecto leitoso, de cor branca. Esta dispersão ocorre porque a luz é dispersa múltiplas vezes pelas gotas, desde que exista um contraste

significativo do índice de refração entre as fases dispersa e contínua [48]. O efeito das dimensões das partículas na emulsão, conjugado com o contraste entre o índice de refração do meio (água, para o caso das emulsões, ou ar para caso das matrizes poliméricas secas) e dos polímeros, provoca um aumento da componente dispersiva da luz, que poderá estar relacionada com o efeito de desviar ligeiramente a posição do máximo da banda SPR para maiores comprimentos de onda. Este efeito da dispersão da luz em sólidos foi também verificado para a dispersão de NPs de Au em MgSO_4 em pó [49].

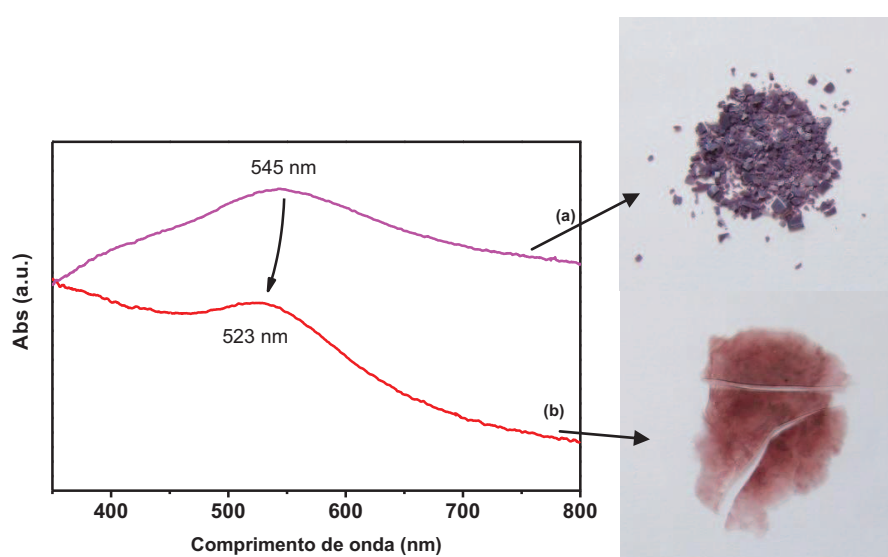


Figura 2.21. Efeito da aplicação conjunta de pressão e temperatura nas propriedades ópticas dos nanocompósitos Au/PtBA. À esquerda: Espectros de reflectância difusa do nanocompósito de Au/PtBA (a) antes e (b) após aplicação conjunta de pressão e temperatura. À direita, fotografia dos nanocompósitos.

A este respeito realizou-se a seguinte experiência: submeteu-se o nanocompósito de Au/PtBA à acção conjunta de temperatura (50°C) e pressão (1.5 MPa) e registaram-se os espectros de reflectância difusa do nanocompósito. Observa-se claramente na Figura 2.21 que a modificação a que foi sujeita a matriz polimérica promoveu uma regeneração da posição da banda de SPR do nanocompósito. A aplicação conjunta de pressão e calor provoca um relaxamento das cadeias poliméricas e a eliminação das interfaces internas polímero/ar, responsáveis pela dispersão da luz, provocando uma alteração de aspecto do material de opaco a translúcido (Figura 2.21 direita). Embora estes resultados apontem para um efeito da dispersão da luz no desvio da banda SPR observada, estes

devem ser analisados com algum cuidado, pois quer a variação do índice de refração do nanocompósito quer a dispersão de NPs na matriz polimérica após o processo de prensagem, não são conhecidos e merecem um estudo mais aprofundado.

2.3. Conclusões

Neste capítulo foi demonstrada a possibilidade de obter nanocompósitos poliméricos, contendo NPs de Au resultantes do mesmo lote de síntese, com propriedades ópticas distintas, utilizando um método de polimerização *in situ* em miniemulsão.

A principal motivação desta estratégia é a produção de emulsões aquosas estáveis de partículas nanocompósitas cujas propriedades dependam não só das propriedades das NPs de Au utilizadas, mas sejam também resultado da morfologia final dos nanocompósitos. A este respeito, o tipo de estabilizante orgânico à superfície das NPs de Au parece desempenhar um papel crucial em determinar o tipo de arranjo das NPs na matriz polimérica durante o processo de preparação do nanocompósito. Adicionalmente, à luz das distintas morfologias observadas para os nanocompósitos de PS e PtBA, a utilização de polímeros de distintas temperaturas de transição vítrea T_g , parece estar na origem dos diferentes arranjos das NPs nos respectivos nanocompósitos, apesar de este aspecto necessitar de um estudo mais aprofundado. Numa perspectiva do design de materiais, o método aqui descrito fornece uma via para preparar uma variedade de materiais com propriedades ópticas ajustáveis para o desenvolvimento de novos dispositivos. As propriedades ópticas dos nanocompósitos apresentados são dominadas por efeitos plasmónicos e dependem de uma forma crítica de dois efeitos conhecidos: a variação do índice de refração do meio dielétrico circundante e o acoplamento plasmónico interpartícula. Na generalidade, é reportada aqui uma estratégia alternativa para alterar a resposta óptica de nanocompósitos através do controlo da morfologia do compósito final em alternativa à mais comum estratégia de modificar as características morfológicas das NPs metálicas utilizadas. Adicionalmente, devido à sua estabilidade coloidal em soluções aquosas, estes nanocompósitos parecem particularmente interessantes para aplicações clínicas em diagnóstico.

2.4. Referências

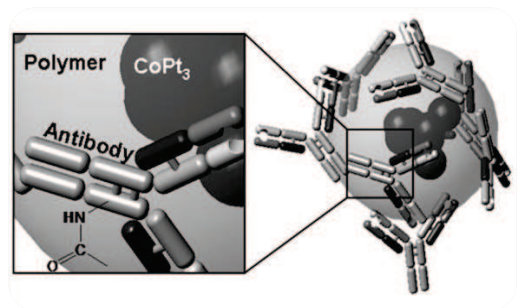
1. Daniel, M.-C. and Astruc, D., *Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology*. Chemical Reviews, 2004. **104**: p. 293-346.
2. Wang, Z. and Ma, L., *Gold nanoparticle probes*. Coordination Chemistry Reviews, 2009. **253**: p. 1607-1618.
3. Faraday, M., *Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light*. Philos. Trans. Royal Soc. London, 1857. **147**: p. 145-181.
4. Mie, G., Ann. Phys. (Leipzig), 1908. **25**: p. 377.
5. Grzelczak, M., Pérez-Juste, J., Mulvaney, P., and Liz-Marzán, L. M., *Shape control in gold nanoparticle synthesis*. Chemical Society Reviews, 2008. **37**: p. 1783-1791.
6. Hu, M., et al., *Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications*. Chemical Society Reviews, 2006. **35**: p. 1084-1094.
7. Link, S. and El-Sayed, M. A., *Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods*. Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**: p. 8410-8426.
8. Njoki, P. N., et al., *Size Correlation of Optical and Spectroscopic Properties for Gold Nanoparticles*. J. Phys. Chem. C, 2007. **111**: p. 14664-14669.
9. Wang, H., Wu, Y., Lassiter, B., Nehl, C. L., Hafner, J. H., Nordlander, P., and Halas, N. J., *Symmetry breaking in individual plasmonic nanoparticles*. PNAS, 2006. **103**: p. 10856-10860.
10. Liz-Marzán, L. M., *Nanometals formation and color*. Materials Today, 2004: p. 26-31.
11. Liz-Marzán, L. M., *Tailoring Surface Plasmons through the Morphology and Assembly of Metal Nanoparticles*. Langmuir, 2006. **22**: p. 32-41.
12. Mulvaney, P., *Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles*. Langmuir, 1996. **12**: p. 788-800.
13. Jain, P. K., Lee, K. S., El-sayed, I. H., and El-sayed, M. A., *Calculated Absorption and Scattering Properties of Gold Nanoparticles of Different Size, Shape, and Composition: Applications in Biological Imaging and Biomedicine*. J. Phys. Chem. B, 2006. **110**: p. 7238-7248.
14. Pérez-Juste, J., Pastoriza-santos, I., Liz-Marzán, L. M., and Mulvaney, P., *Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications*. Coordination Chemistry Reviews, 2005. **249**: p. 1870-1901.
15. Jiang, G., et al., *Signal Enhancement and Tuning of Surface Plasmon Resonance in Au Nanoparticle/Polyelectrolyte Ultrathin Films*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**: p. 18687-18694.
16. Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., and Schatz, G. C., *The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment*. J. Phys. Chem. B, 2003. **107**: p. 668-677.
17. Liz-Marzán, L. M., Giersig, M., and Mulvaney, P., *Synthesis of Nanosized Gold-Silica Core-Shell Particles*. Langmuir, 1996. **12**: p. 4329-4335.
18. Underwood, S. and Mulvaney, P., *Effect of the Solution Refractive Index on the Color of Gold Colloids*. Langmuir, 1994. **10**: p. 3427-3430.

19. Jain, P. K., Qian, W., and El-sayed, M. A., *Ultrafast Electron Relaxation Dynamics in Coupled Metal Nanoparticles in Aggregates*. J. Phys. Chem. B, 2006. **110**: p. 136-142.
20. Ung, T., Liz-Marzán, L. M., and Mulvaney, P., *Gold nanoparticle thin films*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2002. **202**: p. 119- 126.
21. Wei, Q.-H., Su, K.-H., Durant, S., and Zhang, X., *Plasmon Resonance of Finite One-Dimensional Au Nanoparticle Chains*. Nano Letters, 2004. **4**: p. 1067-1071.
22. Ramesh, G. V., Porel, S., and Radhakrishnan, T. P., *Polymer thin films embedded with in situ grown metal nanoparticles*. Chemical Society Reviews, 2009. **38**(9): p. 2646-2656.
23. Caseri, W., *Inorganic Nanoparticles as Optically Effective Additives for Polymers*. Chemical Engineering Communications, 2009. **196**(5): p. 549-572.
24. Althues, H., Henle, J., and Kaskel, S., *Functional inorganic nanofillers for transparent polymers*. Chemical Society Reviews, 2007. **36**(9): p. 1454-1465.
25. Hussain, F., Hojjati, M., Okamoto, M., and Gorga, R. E., *Review article: Polymer-matrix nanocomposites, processing, manufacturing, and application: An overview*. Journal of Composite Materials, 2006. **40**(17): p. 1511-1575.
26. Pyun, J., *Nanocomposite materials from functional polymers and magnetic colloids*. Polymer Reviews, 2007. **47**(2): p. 231-263.
27. Sudeep, P. K. and Emrick, T., *Polymer-nanoparticle composites: Preparative methods and electronically active materials*. Polymer Reviews, 2007. **47**(2): p. 155-163.
28. Schmidt, A. M., *Thermoresponsive magnetic colloids*. Colloid and Polymer Science, 2007. **285**(9): p. 953-966.
29. Pereira, S. M. D. S., Martins, M. A., Trindade, T., Watson, I. M., Zhu, D., and Humphreys, C. J., *Controlled Integration of Nanocrystals in Inverted Hexagonal Nano-Pits at the Surface of Light-Emitting Heterostructures*. Advanced Materials, 2008. **20**: p. 1038-1043.
30. Fievet, F., Lagier, J. P., Blin, B., Beaudoin, B., and Figlarz, M., *Homogeneous and Heterogeneous Nucleations in the Polyol Process for the Preparation of Micron and Sub-Micron Size Metal Particles*. Solid State Ionics, 1989. **32-3**: p. 198-205.
31. Fievet, F., Lagier, J. P., and Figlarz, M., *Preparing Monodisperse Metal Powders in Micrometer and Submicrometer Sizes by the Polyol Process*. MRS Bulletin, 1989. **14**: p. 12.
32. Chen, M., Feng, Y. G., Wang, X., Li, T. C., Zhang, J. Y., and Qian, D. J., *Silver nanoparticles capped by oleylamine: Formation, growth, and self-organization*. Langmuir, 2007. **23**(10): p. 5296-5304.
33. Shukla, N., Liu, C., Jones, P. M., and Weller, D., *FTIR study of surfactant bonding to FePt nanoparticles*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2003. **266**(1-2): p. 178-184.
34. Joo, J., Yu, T., Kim, Y. W., Park, H. M., Wu, F. X., Zhang, J. Z., and Hyeon, T., *Multigran scale synthesis and characterization of monodisperse tetragonal zirconia nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(21): p. 6553-6557.
35. Esteves, A. C. C., Barros-Timmons, A. M., Monteiro, T., and Trindade, T., *Polymer Encapsulation of CdE (E = S, Se) Quantum Dot Ensembles via In-Situ Radical*

- Polymerization in Miniemulsion*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2005. **5**: p. 766-771.
36. Martins, M. A., Neves, M. C., Esteves, A. C. C., Girginova, P. I., Guiomar, A. J., Amaral, V. S., and Trindade, T., *Biofunctionalized ferromagnetic CoPt3/polymer nanocomposites*. Nanotechnology, 2007. **18**: p. 215609.
 37. Pereira, A. S., Rauwel, P., Reis, M. S., Silva, N. J. O., Barros-Timmons, A., and Trindade, T., *Polymer encapsulation effects on the magnetism of EuS nanocrystals*. Journal of Materials Chemistry, 2008. **18**: p. 4572-4578.
 38. Ghosh, S. K. and Pal, T., *Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles: From Theory to Applications*. Chemical Reviews, 2007. **107**: p. 4797-4862.
 39. Liang, Z. J., Susha, A., and Caruso, F., *Gold nanoparticle-based core-shell and hollow spheres and ordered assemblies thereof*. Chemistry of Materials, 2003. **15**(16): p. 3176-3183.
 40. Rao, C. N. R. and Biswas, K., *Characterization of Nanomaterials by Physical Methods*. Annual Review of Analytical Chemistry, 2009. **2**: p. 435-462.
 41. Svergun, D. I., *Determination of the Regularization Parameter in Indirect-Transform Methods Using Perceptual Criteria*. Journal of Applied Crystallography, 1992. **25**: p. 495-503.
 42. *ATSAS 2.4 software package* [Setembro 2010]; Available from: <http://www.embl-hamburg.de/ExternalInfo/Research/Sax/software.html>.
 43. Schneider, G., Decher, G., Nerambourg, N., Praho, R., Werts, M. H. V., and Blanchard-Desce, M., *Distance-dependent fluorescence quenching on gold nanoparticles ensheathed with layer-by-layer assembled polyelectrolytes*. Nano Letters, 2006. **6**: p. 530-536.
 44. Chang, W. S., Slaughter, L. S., Khanal, B. P., Manna, P., Zubarev, E. R., and Link, S., *One-Dimensional Coupling of Gold Nanoparticle Plasmons in Self-Assembled Ring Superstructures*. Nano Letters, 2009. **9**(3): p. 1152-1157.
 45. *FDTD Solutions 6.5 is a high performance commercial software implementation of the finite difference time domain (FDTD) technique*, Lumerical Solutions.
 46. Jensen, T. R., Duval, M. L., Kelly, K. L., Lazarides, A. A., Schatz, G. C., and Van Duyne, R. P., *Nanosphere lithography: Effect of the external dielectric medium on the surface plasmon resonance spectrum of a periodic array of silver nanoparticles*. Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(45): p. 9846-9853.
 47. Templeton, A. C., Pietron, J. J., Murray, R. W., and Mulvaney, P., *Solvent refractive index and core charge influences on the surface plasmon absorbance of alkanethiolate monolayer-protected gold clusters*. Journal of Physical Chemistry B, 2000. **104**(3): p. 564-570.
 48. Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., and Graves, S. M., *Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties*. Journal of Physics-Condensed Matter, 2006. **18**(41): p. R635-R666.
 49. Link, S., Furube, A., Mohamed, M. B., Asahi, T., Masuhara, H., and El-Sayed, M. A., *Hot electron relaxation dynamics of gold nanoparticles embedded in MgSO4 powder compared to solution: The effect of the surrounding medium*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**(5): p. 945-955.

Capítulo 3

Nanocompósitos magnéticos - polímero



Índice

3.1. Introdução	127
3.2. Ligas metálicas de CoPt_3 e FePt_3	129
3.3. Nanocompósitos de ligas metálicas – polímero	133
Propriedades magnéticas	138
Bioconjugação	146
3.4. Óxidos de Ferro: magnetite e maguemite.....	149
3.5. Compósitos óxidos de ferro – polímero	154
Propriedades magnéticas	167
3.6. Conclusões.....	170
3.7. Referencias	172

Neste trabalho reporta-se a preparação de látexes magnéticos através do encapsulamento de NPs magnéticas passivadas com moléculas orgânicas, por polimerização in situ em miniemulsão. A síntese e propriedades magnéticas de NPs de ligas metálicas de cobalto - platina (CoPt₃) e ferro - platina (FePt₃), assim como de óxidos de ferro (magnetite, Fe₃O₄ e maguemite, γ -Fe₂O₃) e respectivos nanocompósitos poliméricos são descritos. Dos polímeros utilizados, o poliacrilato de tert-butilo, PtBA revelou ser o mais promissor: o PtBA possui grupos poliéster que podem ser facilmente hidrolisados, introduzindo grupos carboxílicos à superfície dos nanocompósitos, que permitem a conjugação com estruturas biológicas. A estratégia aqui descrita constitui uma via interessante de desenvolver materiais nanocompósitos com potencial aplicação em ensaios de análise de entidades biológicas in vitro, que pode ser estendido a outros materiais magnéticos. Como prova de conceito, demonstramos aqui a bioconjugação de anticorpos IgG de origem bovina à superfície hidrolisada de nanocompósitos de CoPt₃/PtBA.

3.1. Introdução

Nas últimas duas décadas, verificou-se um progresso sem precedentes na síntese e caracterização de NPs que tem permitido o desenvolvimento de novas tecnologias para diversas aplicações [1-6]. Este desenvolvimento tem sido motivado pelas propriedades singulares dos materiais a uma escala nanométrica, que tem sido aproveitadas em processos inovadores, nomeadamente em aplicações biomédicas [7-13]. NPs de dimensões comparáveis a estruturas biológicas são esperadas de vir a ter um grande impacto em medicina. Por exemplo, existe um grande interesse em NPs magnéticas biofuncionalizadas para aplicações em separação magnética de células, libertação controlada de fármacos, tratamento de tumores por hipertermia e agentes de imagiologia por ressonância magnética [14-23]. Os nanocompósitos magnéticos baseados

em matrizes poliméricas parecem ser materiais particularmente versáteis, dado que são passíveis de ser modificados para preencher os requisitos de biofuncionalidade necessários para aplicações biomédicas [20, 24, 25].

Têm sido desenvolvidos vários nanocompósitos (NCps) poliméricos com funcionalidade magnética recorrendo a diversas estratégias químicas. Trabalhos pioneiros deste tipo de NCps incluem por exemplo, o de Ugelstad e colaboradores, que investigaram a adsorção de sais férricos e ferrosos nos poros de partículas de poliestireno, seguido de precipitação *in situ* dos óxidos de ferro (tipicamente uma mistura de magnetite, Fe_3O_4 e maguemite, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) [26, 27]. A libertação das NPs dos óxidos de ferro dos poros do polímero foi prevenida através de um segundo passo de polimerização, criando uma capa polimérica que envolve o núcleo e as NPs. Têm sido reportados vários outros métodos baseados na adsorção, incluindo processos de heterocoagulação de NPs magnéticas, como por exemplo, ligas de $\text{NiO-ZnO-Fe}_2\text{O}_3$ [28] e misturas de magnetite e maguemite [29, 30] com partículas de poliestireno funcionalizadas com grupos carboxílicos de carga contrária. A deposição de NPs magnéticas com carga em partículas de poliestireno é ainda possível utilizando polieletrólitos de carga contrária, por um processo de deposição camada-a-camada (*layer-by-layer*) [31]. Mais recentemente, desenvolveram-se métodos de preparação de micelas de NPs magnéticas utilizando copolímeros em bloco anfipáticos como dispersantes [32, 33]. A estrutura final das micelas magnéticas é bloqueada pela introdução de um agente de reticulação. Embora estes métodos sejam interessantes para o desenvolvimento de novos NCps magnéticos para aplicações biológicas, requerem geralmente uma posterior etapa de síntese para prevenir a libertação das NPs magnéticas. Este facto tem motivado o desenvolvimento de métodos em que a incorporação das NPs magnéticas ocorra durante a preparação do NCp.

Por exemplo, a polimerização em miniemulsão tem sido utilizada para o encapsulamento de diversas cargas inorgânicas em polímeros, tais como TiO_2 [34-36], SiO_2 [37] e negro de carbono (*carbon black*) [38]. Mais recentemente, tem sido demonstrado, por esta técnica de polimerização, o encapsulamento de NPs semicondutoras estabilizadas com moléculas

orgânicas [39-42]. A polimerização por miniemulsão tem sido amplamente utilizada para a capsulação de NPs de óxidos de ferro, em particular de magnetite [43-52].

Neste trabalho reporta-se a preparação de látexes magnéticos através do encapsulamento de NPs magnéticas passivadas com moléculas orgânicas, por polimerização *in situ* em miniemulsão. A síntese e propriedades magnéticas de NPs de ligas metálicas de cobalto - platina (CoPt_3) e ferro - platina (FePt_3), assim como de óxidos de ferro (magnetite, Fe_3O_4 e maguemite, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e respectivos nanocompósitos poliméricos são reportados. Dos polímeros utilizados, o poliacrilato de *tert*-butilo, PtBA revelou ser o mais promissor: o PtBA possui grupos poliéster que podem ser facilmente hidrolisados, introduzindo grupos carboxílicos à superfície que permitem a conjugação com estruturas biológicas. A estratégia aqui descrita constitui uma via interessante de desenvolver materiais NCps com potencial aplicação em ensaios de análise de entidades biológicas *in vitro*, que pode ser estendido a outros materiais magnéticos. Como prova de conceito, demonstramos aqui a bioconjugação de anticorpos IgG de origem bovina à superfície hidrolisada de NCps de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$.

Apesar do sucesso no encapsulamento de NPs em matrizes poliméricas, utilizando estratégias de polimerização por miniemulsão [43-52], tem sido também descrita a migração das NPs para a superfície das partículas poliméricas e eventual segregação [53]. Neste capítulo, as NPs magnéticas de magnetite e maguemite são utilizadas como materiais de carga modelo, de forma a testar várias condições experimentais no que constitui uma tentativa de clarificar o aparecimento destas morfologias.

3.2. Ligas metálicas de CoPt_3 e FePt_3

As NPs de ligas metálicas de Fe-Pt e Co-Pt constituem uma importante classe de nanomateriais magnéticos. As composições estequiométricas destes materiais podem variar de $x = 0.25, 0.50$ e 0.75 , $\text{Fe}_{(1-x)}\text{Pt}_x$ ou $\text{Co}_{(1-x)}\text{Pt}_x$, sendo possível obter duas fases cristalinas: as formas desordenadas apresentam uma estrutura cúbica de faces centradas, enquanto as formas ordenadas são estruturas tetragonais de faces centradas [54]. As ligas sintetizadas a baixa temperatura são desordenadas e ferromagnéticas, sendo

necessário um passo adicional de recozimento a temperaturas elevadas (tipicamente acima de 400° C [55, 56]) para obter as formas ordenadas. As ligas de cobalto-platina são ferromagnéticas assim como a liga de Fe-Pt. Na sua forma ordenada a liga de FePt₃ é antiferromagnética.

A constante de anisotropia K , que é uma medida da facilidade de rotação da magnetização ao longo do eixo fácil, pode atingir valores de 10^7 Jm^{-3} [57] para as formas ordenadas, valor que é dos mais elevados entre todos os materiais magnéticos duros conhecidos. Estas propriedades tornam interessante a aplicação destes materiais em memórias magnéticas de elevada densidade, assim como em biomedicina.

Neste trabalho, as NPs magnéticas de CoPt₃ e FePt₃ foram sintetizadas utilizando uma adaptação do método poliol descrito por Fievet e colaboradores [58, 59]. Neste método a redução dos sais metálicos ocorre em solventes poliálcoois, (em geral, etileno glicol - EG) através da oxidação do acetaldeído a diacetilo. O acetaldeído é formado por desidratação do etileno glicol a temperaturas elevadas. A mistura reaccional dos sais metálicos em EG foi adicionada a uma mistura de TOA e OA a 180° C de forma a obter as NPs das ligas metálicas revestidas por moléculas orgânicas. Estas aminas são exemplos de solventes de elevado ponto de ebulição que apresentam a capacidade de coordenar à superfície das NPs. Isto permite a obtenção de NPs de elevada qualidade, dispersáveis em solventes orgânicos [60].

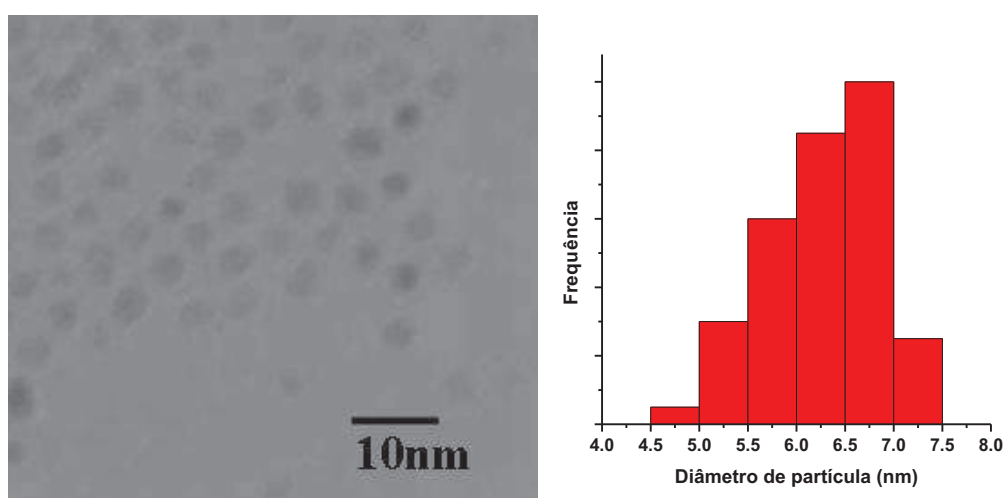


Figura 3.1. Imagem de microscopia de TEM de NPs de CoPt₃ e respectiva distribuição de tamanhos.

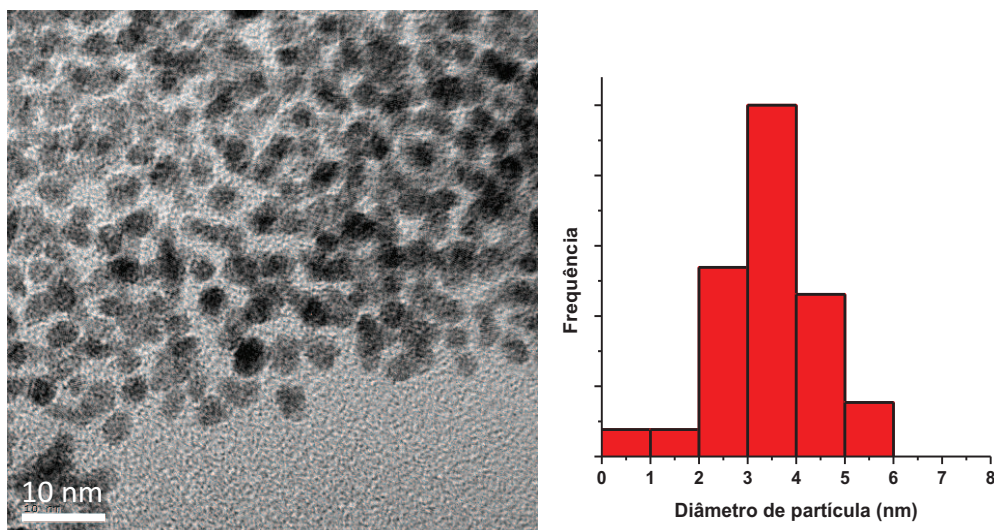


Figura 3.2. Imagem de microscopia de TEM de NPs de FePt₃ e respectiva distribuição de tamanhos.

Ao utilizar o método poliol na presença deste tipo de solventes, obtêm-se coloides relativamente monodispersos e estáveis em meio orgânico. As Figuras 3.1 e 3.2 mostram as imagens de TEM das NPs de CoPt₃ ($d = 6.2 \pm 0.9$ nm) e de FePt₃ ($d = 3.4 \pm 1.0$ nm) e respectivas distribuições de tamanhos, obtidas pelo método poliol na presença de TOA e OA. As imagens mostram as NPs razoavelmente bem dispersas e separadas umas das outras como consequência da repulsão estérica, resultado do revestimento orgânico. A composição das NPs magnéticas foi obtida por EDX em agregados de NPs e corroboram a razão 1:3 proposta para as ligas metálicas, tendo-se determinado as composições médias de Co_{0.23}Pt_{0.77} e Fe_{0.22}Pt_{0.78}, respectivamente. Os difractogramas de XRD de pós (Figura 3.3) confirmam a presença das fases cristalinas das ligas com uma estrutura cúbica de faces centradas e não se observam os picos correspondentes aos planos de difracção das faces puras (fases de Co/Fe ou Pt segregadas). Não se observam também os picos correspondentes às fases ordenadas pelo que podemos afirmar que as NPs obtidas tratam-se das formas desordenadas das ligas [61, 62].

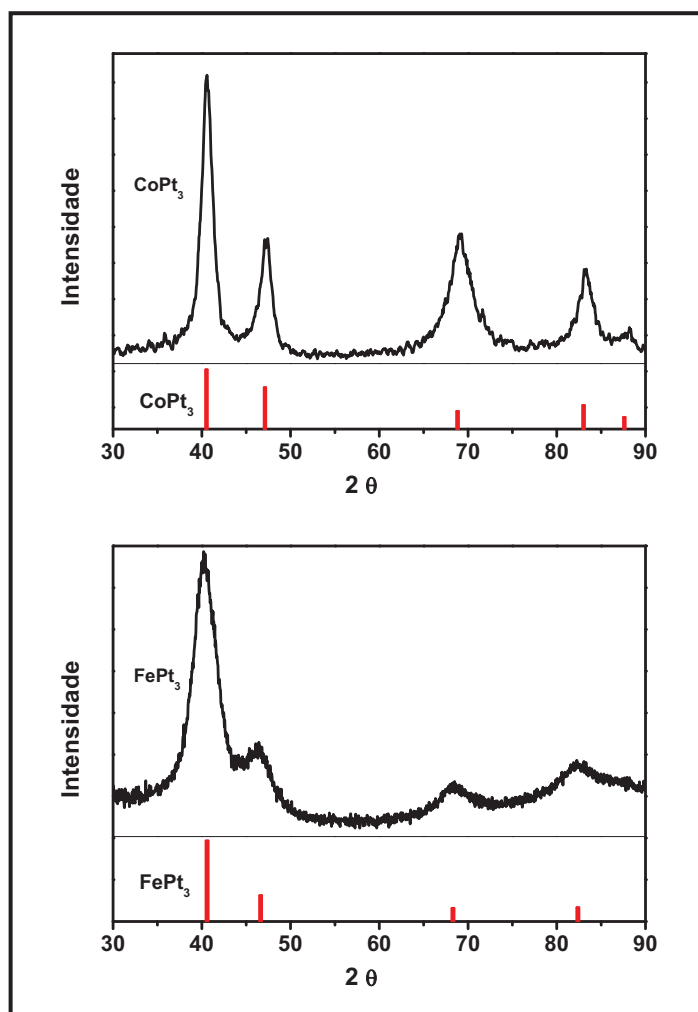


Figura 3.3. Difractogramas de raios-X de pós de NPs de CoPt_3 e FePt_3 .

À semelhança do que foi descrito no capítulo anterior para o caso das NPs de ouro revestidas com moléculas de TOA e OA, a presença destas na superfície das NPs das ligas metálicas pode ser verificada por espectroscopia de IV (FTIR) dos pós obtidos após remoção do excesso de moléculas estabilizantes (Figura 3.4 e Figura 3.5). Adicionalmente às bandas correspondentes às vibrações de elongação dos grupos (C-H) das cadeias alifáticas das moléculas de TOA e OA na gama $2980\text{-}2830\text{ cm}^{-1}$, são observadas as bandas relativas à formação de iminas alifáticas: a vibração de elongação do grupo ($=\text{N-H}$) a $3326\text{-}3316\text{ cm}^{-1}$; a vibração de elongação do grupo (C=N) a $1650\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ e finalmente a uma banda relacionada com a deformação angular (C=N-H) a 1570 cm^{-1} [63].

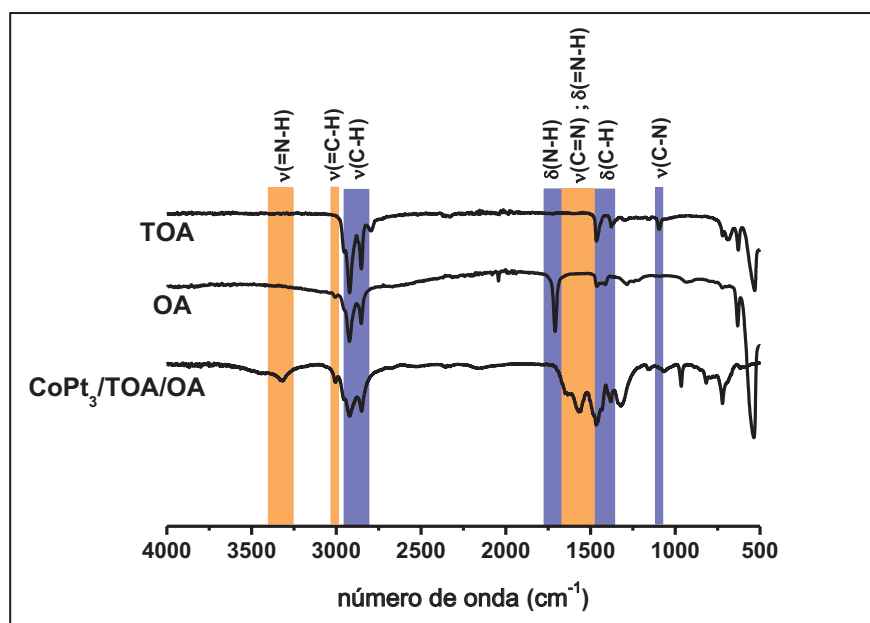


Figura 3.4. Espectros de FTIR das NPs de CoPt_3 revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.

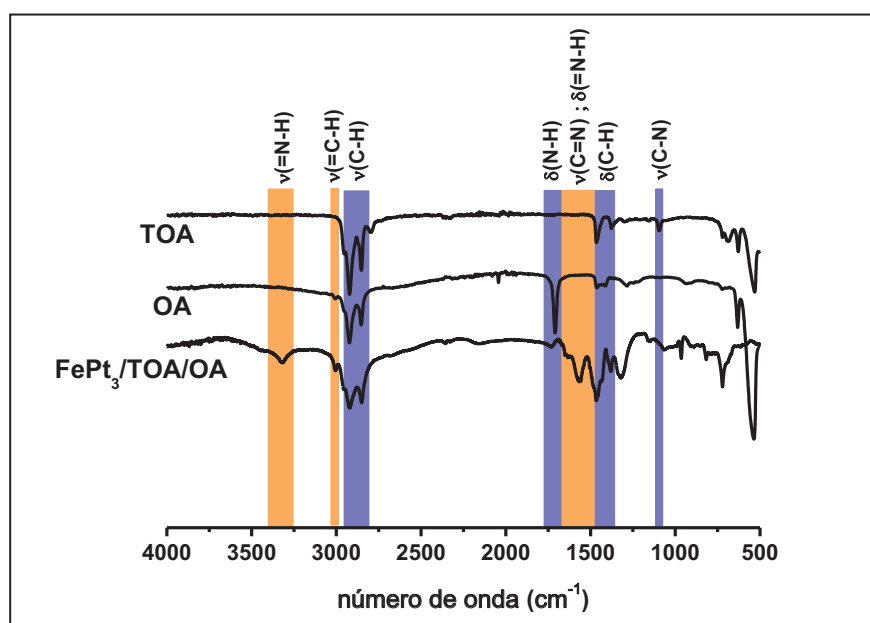


Figura 3.5. Espectros de FTIR das NPs de FePt_3 revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.

3.3. Nanocompósitos de ligas metálicas – polímero

Para o encapsulamento das NPs magnéticas em partículas de polímero através de uma estratégia de polimerização *in situ* por miniemulsão, foi inicialmente preparada uma

dispersão estável de NPs na solução de monómero. Este passo foi precedido pela remoção do excesso de OA e TOA da superfície das NPs. Comparando com outros trabalhos do nosso grupo relativamente à polimerização por miniemulsão na presença de QDs [39, 40] é esperada a aglomeração das NPs das ligas metálicas, em virtude da forte interacção magnética entre as NPs. Este fenómeno não foi no entanto observado e a suspensão das NPs era estável sem a necessidade de agentes tensioactivos adicionais.

É possível assim obter uma miniemulsão estável por sonicação da mistura das gotas de monómero dispersas em água e estabilizadas por um agente tensioactivo, neste caso o dodecil sulfato de sódio, SDS. A reacção de polimerização ocorreu em condições convencionais de formação de radicais livres, utilizando um iniciador solúvel na fase aquosa (KPS). O látex final apresenta uma cor ligeiramente cinzenta devido à presença das NPs. Apesar da sua aparente homogeneidade, o látex final consiste em uma mistura de partículas NCps e partículas de polímero puro. No entanto, o compósito magnético pode ser facilmente separado por acção de um ímã, obtendo-se um pó que é constituído essencialmente pela fase cristalina da liga metálica (CoPt_3 ou FePt_3) dispersa na matriz polimérica, como foi confirmando por DRX e FTIR, respectivamente. A química superficial das cargas inorgânicas desempenha um papel importante nas propriedades finais dos compósitos poliméricos. É sabido que para evitar a segregação das fases durante a sua preparação, a capsulação das NPs envolve a funcionalização química da superfície inorgânica. No entanto, este método tem sido investigado principalmente para métodos convencionais de polimerização na presença de NPs relativamente grandes e geralmente de natureza hidrofóbica, sendo a sílica modificada à superfície um material muito utilizado neste contexto [64, 65].

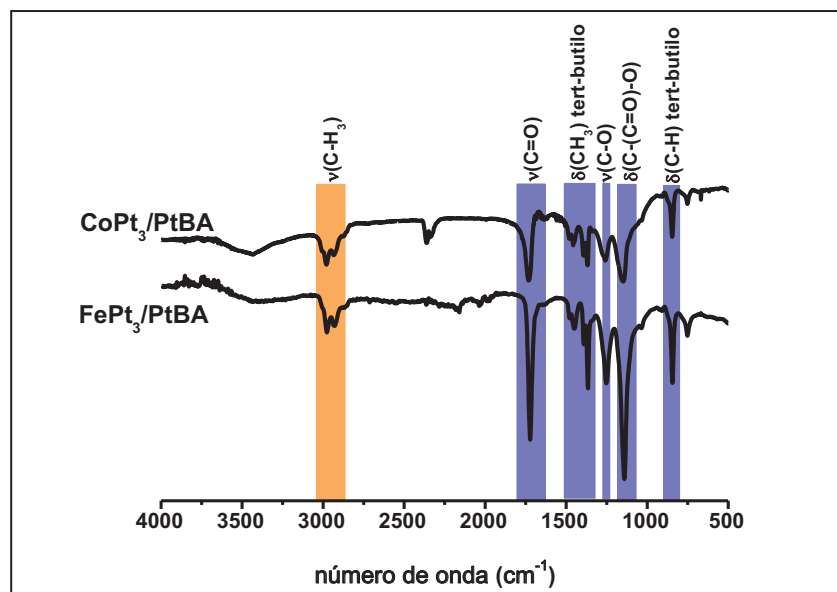


Figura 3.6. Espectros de FTIR dos NCps de CoPt₃/PtBA e FePt₃/PtBA.

O encapsulamento de NPs passivadas com moléculas orgânicas usando a polimerização por miniemulsão tem sido pouco investigada e os mecanismos envolvidos são distintos dos que são propostos para a polimerização de emulsão convencional [41]. Os resultados apresentados até ao momento são consistentes com a presença das ligas metálicas e da matriz de PtBA no nanocompósito final, apesar de não provar que tenha ocorrido o encapsulamento polimérico das NPs metálicas. Um outro caso possível seria a migração das NPs inorgânicas para a superfície das gotículas da miniemulsão, durante a polimerização, favorecendo as interações de van der Waals entre as moléculas à superfície das NPs e do tensioactivo. Consequentemente, no final do processo de polimerização, as NPs inorgânicas estariam localizadas na superfície dos nanocompósitos finais. No entanto, este não é o caso para os sistemas de CoPt₃/PtBA aqui apresentados, como pode ser demonstrado por AFM e TEM. A partir da análise de várias imagens de AFM do nanocompósito CoPt₃/PtBA, o material NCp é composto por duas fases distintas, uma correspondente a um núcleo magnético (40-60 nm), que está dentro da esfera de polímero, tipicamente com 200 nm de diâmetro (Figura 3.7).

Embora a análise de TEM (Figura 3.8) revele algumas modificações morfológicas na matriz polimérica quando a amostra foi exposta ao feixe de electrões, como resultado da baixa temperatura de transição vítrea do PtBA ($T_g = 41^\circ \text{C}$), estes resultados, juntamente com

as imagens AFM, indicam claramente que as partículas do nanocompósito final são formadas por aglomerados de NPs CoPt_3 encapsulados pelo polímero. Isto tem sido observado para um grande número de partículas nanocompósitas de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$, mas torna-se particularmente evidente quando analisada uma partícula de nanocompósito isolada (Figura 3.8).

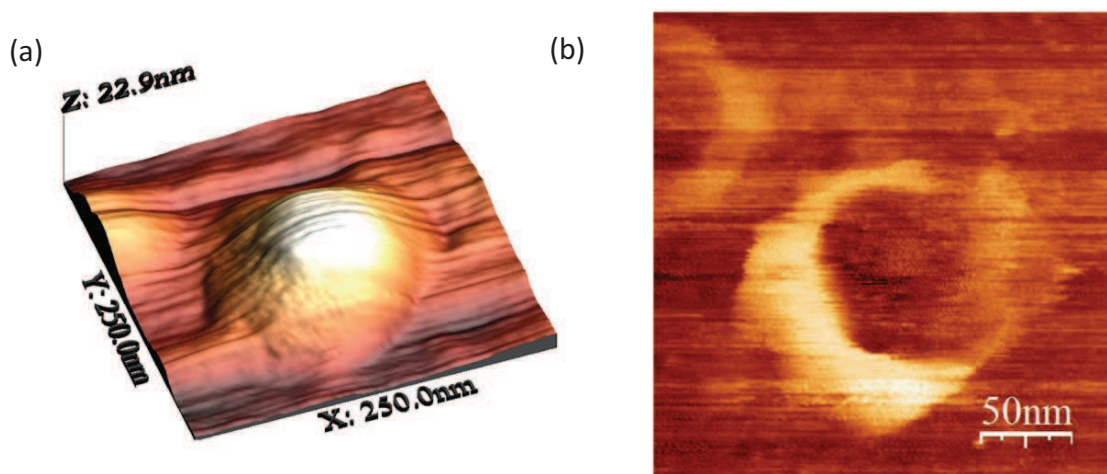


Figura 3.7. Imagens de AFM dos NCps de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$: (a) topografia e (b) imagem de fase.

O encapsulamento de conjuntos de NPs utilizando uma técnica de polimerização miniemulsão também foi reportado para QDs passivados organicamente [39, 40]. Comparado com esses sistemas, para as NPs magnéticas seria esperado um forte efeito de agregação devido à interação magnética. O tamanho, a concentração e a natureza das moléculas estabilizantes das NPs são variáveis que influenciam o encapsulamento no polímero. Como mencionado anteriormente, as interações favoráveis entre as cadeias alquilo dos agentes estabilizantes e o tensoactivo utilizado na miniemulsão, têm sido avançados como a principal explicação para a migração das NPs para a superfície das partículas de polímero, onde está localizado o tensoactivo [41, 42]. Por outro lado, a existência de interações específicas entre as NPs e a matriz polimérica também têm sido apontadas como determinantes do posicionamento das NPs inorgânicas nas partículas de polímero. Exemplo deste efeito é a diferente disposição espacial de NPs de magnetite em partículas poliméricas de PMMA ou de PS [53]. Xia e colaboradores avançam como possível explicação para o encapsulamento ou não das NPs de magnetite, as diferenças de miscibilidade das NPs nas diferentes matrizes poliméricas [53].

No caso dos NCps de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$, mostra-se claramente que as NPs de CoPt_3 tendem a organizar-se em agregados no interior das esferas de polímero, o que pode resultar, quer de uma afinidade maior das moléculas estabilizantes com a matriz polimérica, quer como resultado da interacção magnética entre NPs.

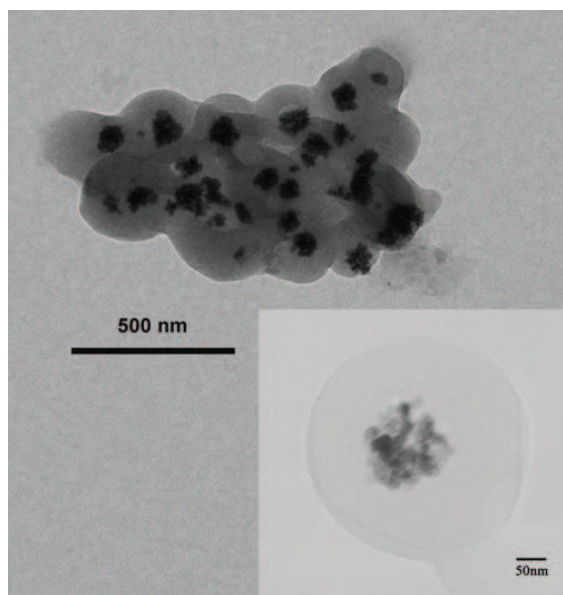


Figura 3.8. Imagens de microscopia de TEM dos NCps de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$ (em detalhe: uma partícula compósita isolada).

Para o caso dos NCps de $\text{FePt}_3/\text{PtBA}$ a análise por microscopia revelou um comportamento substancialmente diferente. Pela análise das imagens de AFM do NCp de $\text{FePt}_3/\text{PtBA}$ é possível verificar a presença de duas fases distintas, uma correspondente a agregados de NPs (20-40 nm), na esfera de polímero, tipicamente com 150-200 nm de diâmetro (Figura 3.9). As imagens de TEM (Figura 3.10) do NCp revelam que as NPs magnéticas na forma de pequenos agregados se encontram predominantemente na superfície das gotas.

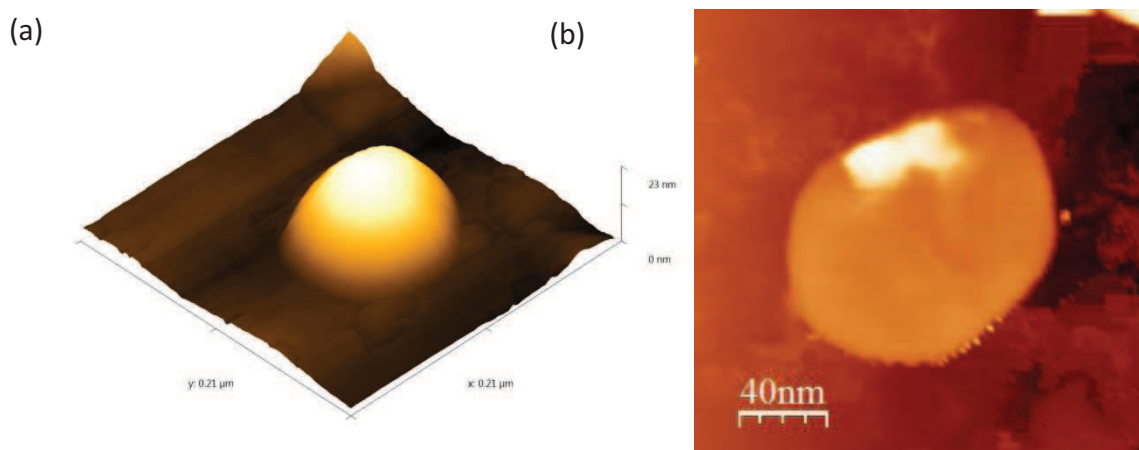


Figura 3.9. Imagens de AFM de uma partícula de NCps de $\text{FePt}_3/\text{PtBA}$ (a) topografia e (b) imagem de fase.

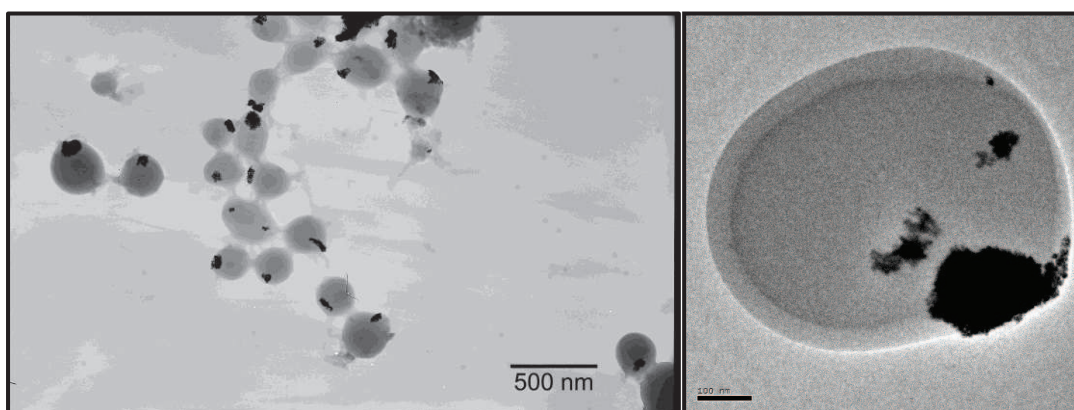


Figura 3.10. Imagens de microscopia de TEM dos NCps de $\text{FePt}_3/\text{PtBA}$ (em detalhe: uma partícula compósita isolada).

Propriedades magnéticas

A carga final de NPs magnéticas no látex polimérico, tal como determinado por análise termogravimétrica do NCp e após um processo de separação exaustivo, foi inferior a 10 % em massa ($\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$, 9.6% e $\text{FePt}_3/\text{PtBA}$, 7.2%). No entanto, esta quantidade de NPs é suficiente para que os látexes magnéticos respondam a campos magnéticos externos e, portanto, possam ser facilmente separados da emulsão aquosa, num curto período de tempo.

Os resultados para a magnetização do nanocompósito $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$ (normalizados para a massa de NPs) são apresentados na Figura 3.11. A dependência da magnetização com a temperatura foi medida entre 5-350 K com um campo aplicado $H = 100$ Oe, utilizando as curvas de ZFC (arrefecimento na ausência de campo) e FC (arrefecimento na presença do

campo aplicado). A irreversibilidade térmica ocorre para temperaturas abaixo de $T \sim 300$ K, e o máximo da curva ZFC ocorre em $T = 280$ K, que está associado com o bloqueio magnético. Em ambos os casos, a temperatura de Curie estimada é superior a 450 K, de acordo com o reportado previamente para o CoPt_3 macrocristalino, $T_c \sim 480$ K [66, 67].

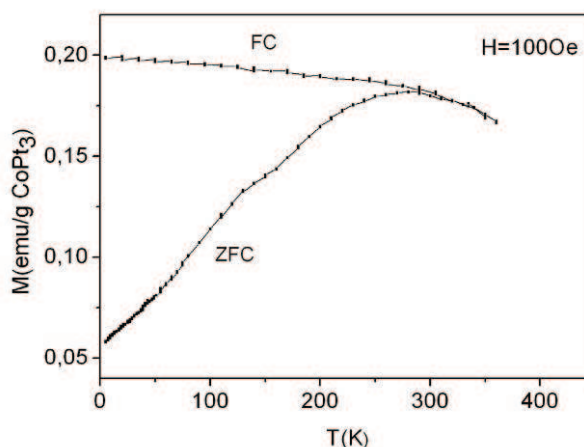


Figura 3.11. Curvas de arrefecimento na ausência (ZFC) e na presença (FC) de campo externo de 100 Oe, para os NCps de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$.

As curvas de histerese $M(H)$, medidas para as NPs de CoPt_3 e para o NCp $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$, confirmam o estado ferromagnético para ambas as amostras. Para as NPs de CoPt_3 , a magnetização de saturação (M_s) é cerca de 20 emu/g (CoPt_3) na gama de temperaturas 5-350 K. Para a amostra $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$, a M_s foi reduzida para 0,6 (a 350 K) e 0,9 emu/g (CoPt_3) (a 5 K). A Figura 3.12 apresenta o $M(H)$ para o nanocompósito, a temperatura mais elevada ($T = 350$ K), após a remoção do componente de magnetização diamagnética (linear em H , com inclinação negativa) resultante da matriz polimérica. A redução da M_s reflecte a sensibilidade da magnetização para os estados de superfície das nanopartículas CoPt_3 quando dispersos em uma matriz polimérica [68]. É Importante notar que a temperatura de bloqueio (T_B) para os nanocompósitos $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$ aqui descrita é muito superior à T_B reportada para sistemas baseados em CoPt_3 (geralmente inferior a 70 K) [68].

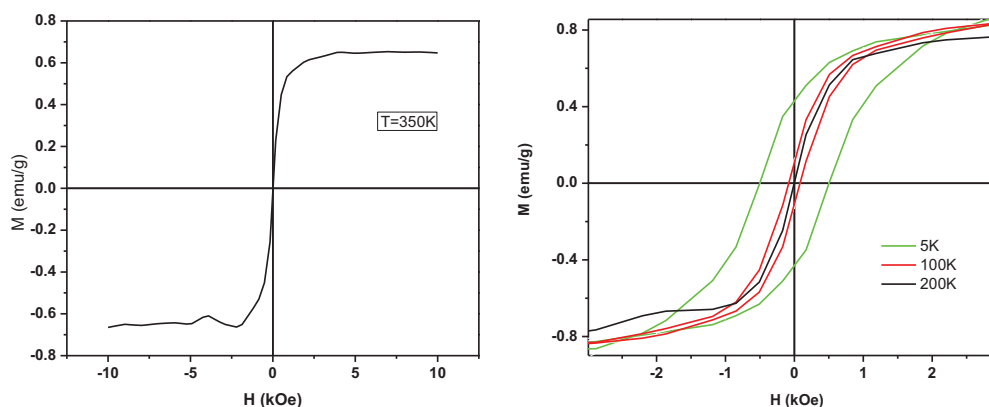


Figura 3.12. Curvas de magnetização em função do campo magnético aplicado para o NCp de CoPt₃/PtBA: à esquerda a T = 350 K, e à direita a 5, 100 e 200 K.

Estes resultados parecem contrariar os resultados descritos na literatura para este sistema, que dão conta da natureza superparamagnética das NPs de ligas metálicas de CoPt e CoPt₃ nesta ordem de tamanhos [67-70].

O superparamagnetismo depende da escala de tempo considerada, devido à natureza estocástica da agitação térmica do sistema. A probabilidade do momento magnético poder alternar (ou não) entre valores mínimos de um perfil de energia, depende principalmente do tempo de medida característico da técnica experimental, τ_m , comparado com o tempo de relaxação característico associado com o mecanismo de rotação do momento magnético. Para o caso em que o tempo de relaxação é menor que o tempo de medida $\tau \ll \tau_m$, o momento magnético das NPs consegue oscilar através da barreira de energia e diz-se que o sistema encontra-se desbloqueado, de outro modo, se o tempo de medida é inferior ao do mecanismo de relaxação $\tau > \tau_m$, o sistema designa-se bloqueado.

A flutuação do momento magnético poderá ocorrer através de dois mecanismos distintos: um mecanismo de relaxação intrínseco, que ocorre pela rotação da componente resultante do momento magnético (relaxação de Néel) e um mecanismo extrínseco, que resulta da rotação da partícula (relaxação Browniana), por exemplo num fluido (Figura 3.13).

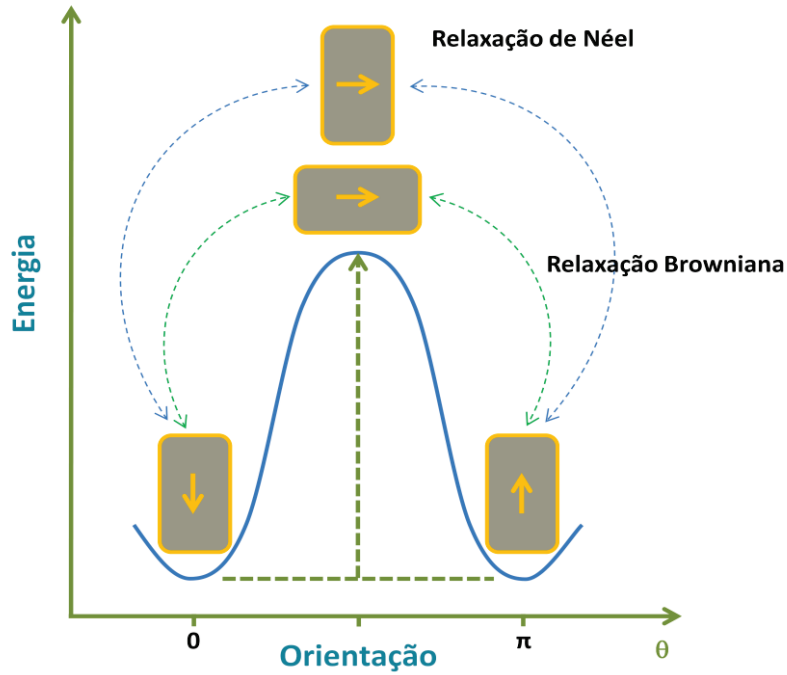


Figura 3.13. Possíveis mecanismos de rotação do momento magnético para NPs.

Quanto ao mecanismo de relaxação de Néel, o tempo de medida observado (τ_N) depende da barreira de energia de anisotropia magnética E_a , e da temperatura, sendo o processo activado termicamente por uma relação exponencial (lei de Arrhenius). O tempo característico associado a este mecanismo de relaxação é:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{E_a}{K_B T}\right) \quad (3.1)$$

em que K_B é a constante de Boltzmann. Geralmente, τ_0 é considerado como constante com a temperatura, sendo da ordem de $10^{-9} - 10^{-13}$ s.

Para uma determinada experiência, em que o parâmetro relevante é determinado em função de T , o sistema encontra-se bloqueado abaixo de uma temperatura de bloqueio T_B dada pela equação 3.1 quando $\tau_N = \tau_m$. Para o caso mais simples de partículas com anisotropia uniaxial, o momento magnético da partícula apresenta dois estados mínimos de energia, separados por uma barreira de energia resultante da anisotropia magnética: $E_a = K_a V$, em que K_a é a constante de anisotropia característica do material e V é o volume da partícula. A relação anterior pode ser generalizada para sistemas com outras fontes de

de anisotropia, considerando-se neste caso uma constante de anisotropia efectiva, K_{eff} em vez de K_a .

O outro mecanismo de rotação do momento magnético passa pela rotação espacial da NP. Este mecanismo, denominado por relaxação Browniana, depende da viscosidade do meio circundante (que é função da temperatura) $\eta(T)$ e do volume hidrodinâmico da partícula V_H . O tempo de relaxação associado a este mecanismo τ_B é dado pela equação 3.2:

$$\tau_B = \frac{3\eta(T)V_H}{K_B T} \quad (3.2)$$

Os mecanismos de relaxação de Néel e Brown ocorrem em paralelo e o tempo de relaxação efectivo τ é dado por:

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_B} + \frac{1}{\tau_N} \quad (3.3)$$

Como pode ser deduzido da análise das equações 3.1 e 3.2, o mecanismo de Néel é “exponencialmente” ineficaz com o aumento do volume da partícula, enquanto o mecanismo de Brown é apenas “proporcionalmente” ineficaz, e desta forma, para partículas de pequeno volume o tempo de relaxação é dominado pela relaxação de Néel enquanto para partículas de volumes maiores o mecanismo de Brown é dominante. O efeito dos mecanismos de relaxação está documentado na Figura 3.14, assim como o efeito da variação da viscosidade do meio e da constante de anisotropia efectiva.

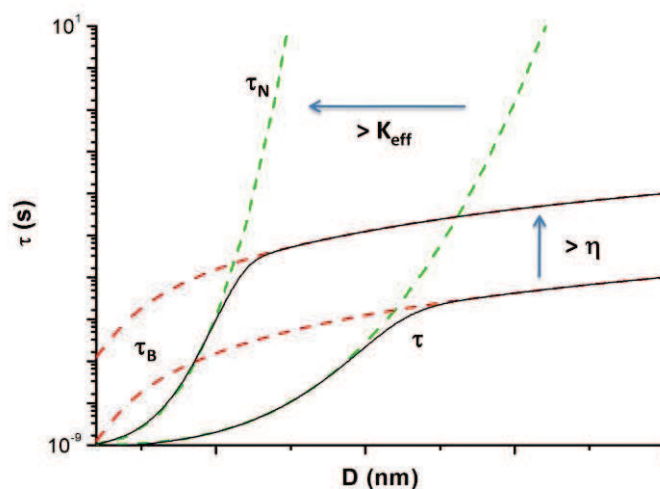


Figura 3.14. Tempos de relaxação efectivos (traço contínuo), de relaxação Browniana (tracejado vermelho) e de relaxação de Néel (tracejado verde) em função do diâmetro de NP.

A medição da susceptibilidade magnética AC em função da temperatura para as NPs de CoPt_3 em pó e dispersas num solvente orgânico, como por exemplo octano (cujo ponto de fusão é de 216 K) mostram, no entanto, um comportamento característico de um sistema superparamagnético, cujo momento se encontra bloqueado, observando-se uma dependência distinta das componentes em fase e fora-de-fase (χ' e χ'' , respectivamente) com a frequência (Figura 3.15). No regime de baixas temperaturas, χ'' é diferente de zero, o que significa que o momento magnético das NPs magnéticas não é susceptível de oscilar através da aplicação de um campo magnético alternado, isto é, não é possível para o momento magnético passar a barreira energética E_a e seguir o campo. Por outras palavras, nesta gama de temperaturas, o tempo característico de alternância do momento magnético das NPs, τ é superior ao tempo característico de medida, τ_m . Nestas circunstâncias diz-se que as NPs superparamagnéticas encontram-se bloqueadas. Com o aumento da temperatura, os momentos magnéticos das NPs com menor anisotropia começam a rodar (a tornar-se desbloqueados) já que o valor de τ começa a ser comparável e depois até menor do que τ_m , sendo o processo activado termicamente e designado de relaxação de Néel. Este mecanismo de relaxação é o único mecanismo disponível para o momento magnético das NPs em pó e em octano abaixo do ponto de fusão e assim: $\tau = \tau_N$.

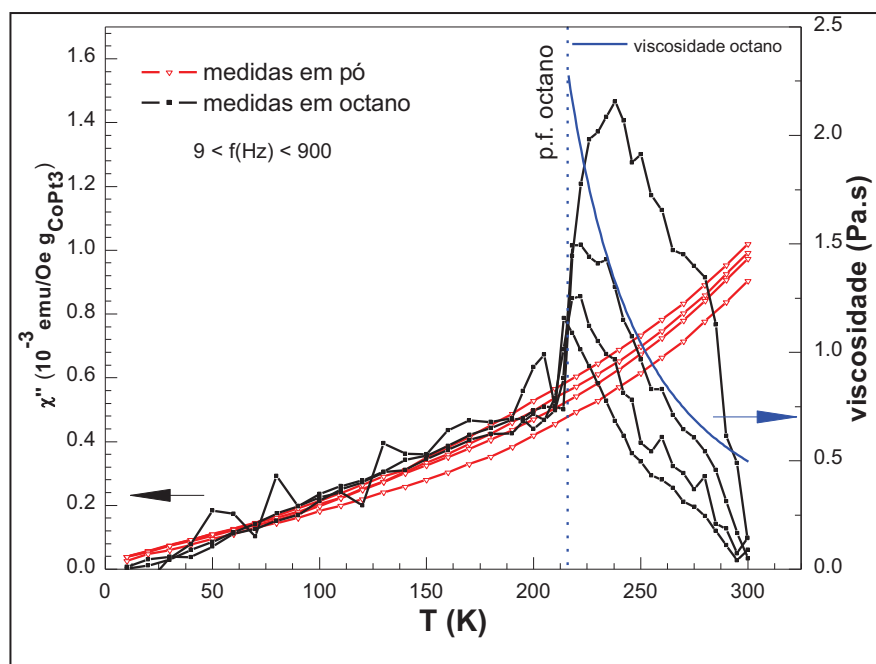


Figura 3.15. Componente fora-de-fase da susceptibilidade magnética AC de NPs de CoPt₃ em pó e dispersas em octano (p.f. ~216 K), adquirido em função da temperatura para a gama de frequências seleccionadas entre 9 e 900 Hz. Embora a concentração de NPs na solução de octano não seja conhecida, as curvas obtidas estão representadas á mesma escala das obtidas para a amostra em pó.

No fluido, acima o ponto de fusão, a diminuição súbita da viscosidade do octano permite que o momento magnético das NPs responda ao campo aplicado, por rotação de toda a partícula, sendo este processo designado por relaxação Browniana. O aparecimento de um mecanismo Browniano origina um aumento súbito de χ'' , que corresponde ao desbloqueamento de uma fracção relevante de NPs com $\tau_N \gg \tau_m$ (ainda incapaz de relaxar segundo o mecanismo de Néel) e com $\tau_B \sim \tau_m$ (capaz de relaxar segundo um mecanismo Browniano). A cerca de 300 K, a componente χ'' das NPs em octano é nula, o que significa que a totalidade das NPs é capaz de seguir o campo acima esta temperatura. Esta situação é contrária à verificada para as NPs em pó, em que a componente χ'' a 300 K ainda está a aumentar, devido à impossibilidade de, neste caso, as NPs responderem livremente ao campo.

Apresentam-se na Figura 3.16, os resultados para a magnetização do nanocompósito FePt₃/PtBA (normalizados para a massa de NPs). A dependência da magnetização com a temperatura foi medida entre 5-350 K com um campo aplicado $H = 1000$ Oe, utilizando as curvas de ZFC e FC. As amostras de NPs de FePt₃ e do NCp de FePt₃/PtBA apresentam um

comportamento superparamagnético à temperatura ambiente com uma temperatura de bloqueio de $T_B = 25$ K e de 40 K, respectivamente. De notar que a incorporação das NPs de FePt_3 na matriz polimérica origina um ligeiro aumento da temperatura de bloqueio, o que pode estar relacionado com uma maior interacção entre NPs [71].

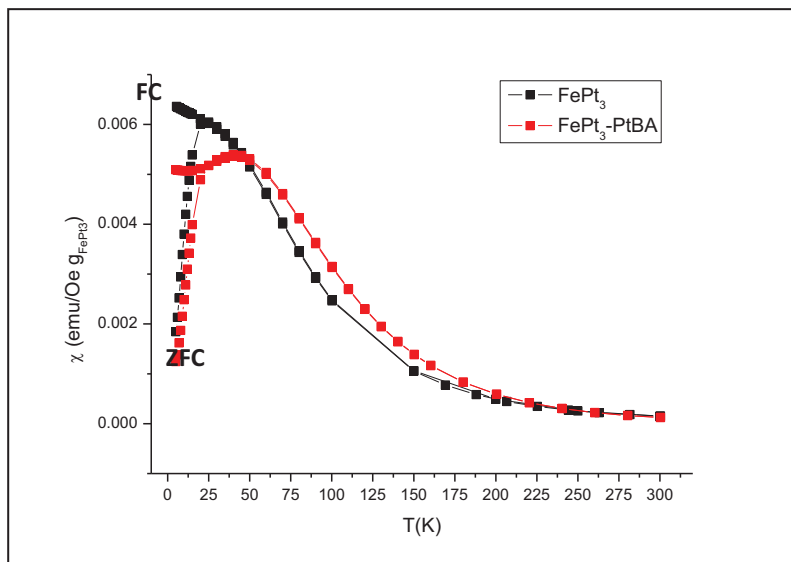


Figura 3.16. Curvas ZFC e FC de FePt_3 e $\text{FePt}_3/\text{PtBA}$.

O valor da constante de anisotropia efectiva, estimado pela análise das propriedades magnéticas é de $7 \times 10^5 \text{ J/m}^3$ e de $4 \times 10^5 \text{ J/m}^3$, caso se considere a T_B das NPs ou do Nc, respectivamente. Estes valores são uma ordem de grandeza inferiores aos valores reportados para este sistema [69], o que era de esperar devido à estrutura desorganizada destas fases cristalinas. Na Figura 3.17 apresenta-se o ciclo de histerese do NCp de $\text{FePt}_3/\text{PtBA}$ a 5K. O valor da magnetização de saturação (M_S) é de cerca de 15 emu/g. O valor da coercibilidade a 5K é de $H_c \sim 1935 \text{ Oe}$.

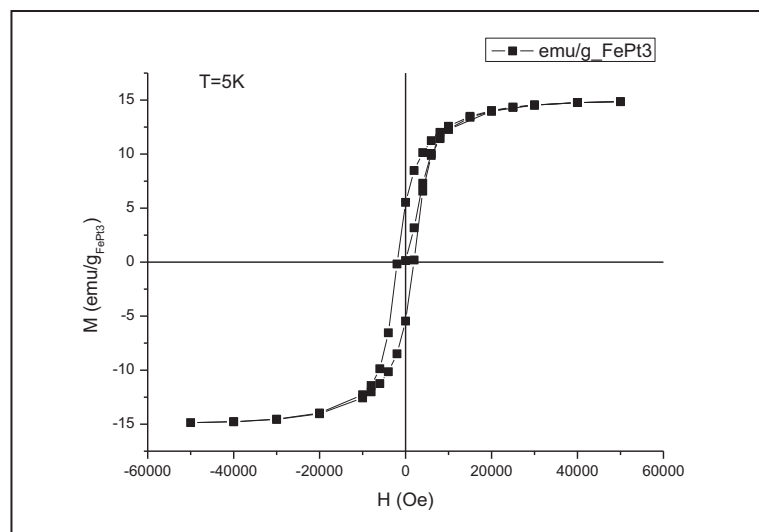


Figura 3.17. Ciclo de histerese para o NCp de FePt₃/PtBA a 5 K.

Bioconjugação

Para demonstrar o potencial destes materiais como NCps biofuncionais, foi efectuada a modificação da sua superfície e posteriormente funcionalizou-se com anticorpos IgG. Numa primeira etapa (Figura 3.18), os grupos éster na superfície do NCp foram convertidos em grupos carboxílicos por hidrólise ácida. Os espectros de FTIR dos NCps de polímeros antes e depois de hidrólise (Figura 3.19) mostram o desaparecimento da banda característica do modo de vibração de elongação do grupo éster (C=O) a 1731 cm^{-1} e aparecimento de novas bandas a 1716 e 1558 cm^{-1} , relativas aos modos de elongação assimétrico e simétrico do grupo carboxilato, respectivamente. As medidas electroforéticas (potencial zeta) realizadas para emulsões contendo os látexes magnéticos antes e após hidrólise confirmam a presença de grupos carboxílicos superficiais. O potencial zeta varia de -1.0 mV , para o NCp inicial para -54.2 mV para o látex após hidrólise (a pH 7.2). O aumento da carga negativa da emulsão do látex está de acordo com a presença de uma elevada concentração de grupos carboxilato à superfície, como foi determinado por titulação potenciométrica ($\sim 5\text{ mmol/g}$). Esta característica é importante para o processo de biofuncionalização porque a carga negativa contribui não só para a estabilidade coloidal do látex magnético, devido a repulsão electrostática, mas também fornece funcionalidades químicas para a ligação covalente de anticorpos.

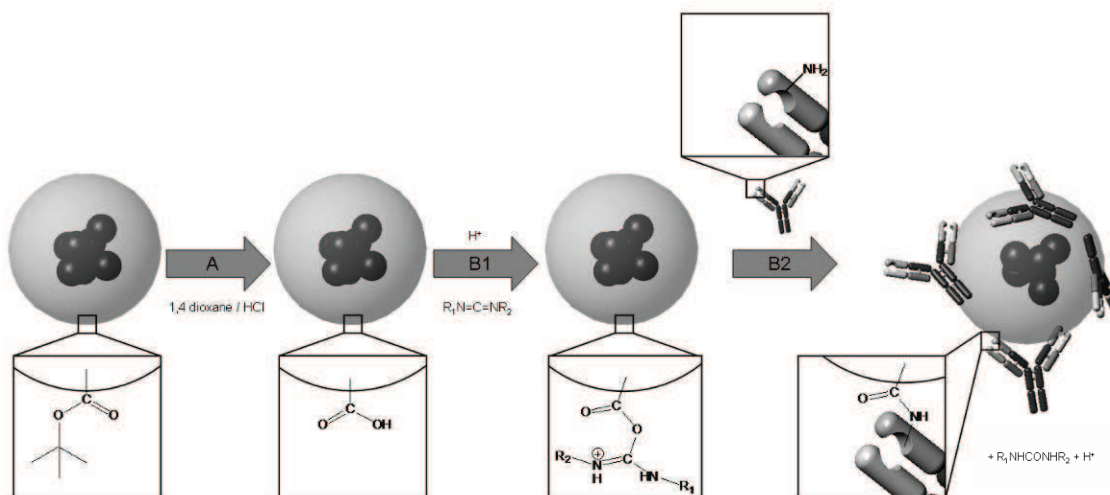


Figura 3.18. Esquema que representa detalhadamente o procedimento de modificação superficial dos NCps de NPs magnéticas-PtBA e bioconjugação com anticorpos. A: Reacção de hidrólise dos grupos éster de *tert*-butilo e formação dos grupos carboxílicos superficiais B1: Activação da superfície utilizando EDAC e formação do intermediário reactivo de *O*-acilisourea. B2: Formação de uma ligação amida entre os grupos carboxílicos à superfície com os grupos amina dos anticorpos.

A modificação posterior da superfície, para a ligação de anticorpos, envolve o tratamento dos grupos carboxílicos com uma carbodiimida (hidroclorato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, EDAC). Esta etapa de activação cria um intermediário reactivo na superfície da partícula. Este intermediário pode ser deslocado por ataque nucleófilo, pelos grupos amina no anticorpo, formando uma ligação amida entre os grupos carboxílicos na partícula e os grupos amina no anticorpo. Como ambos os grupos carboxílicos e amina estão presentes nas moléculas de anticorpos, a formação de agregados destes anticorpos também podem ocorrer. O valor do pH da solução tampão em que ocorre a ligação (5,5) foi escolhido de forma a situar-se num valor intermédio entre o *pKa* dos grupos carboxílicos ($\sim 4.4-4.5$ a 25°C , determinado por titulação potenciométrica) e o *PI* do anticorpo ($\sim 6-7$) [72], para promover a aproximação dos anticorpos à superfície das partículas através de atracção electrostática. Os grupos que não reagiram foram desactivados pela reacção com cloridrato de tris-(hidroximetil)-aminometano (TRIS), que é ancorado na superfície das partículas através da formação de uma ligação amida com os grupos carboxílicos restantes na superfície das partículas. A reacção proporciona grupos hidroxílicos que mantêm a estabilidade aquosa das

partículas. Este passo é importante de forma a criar superfícies capazes de minimizar a adsorção não-específica de biomoléculas em processos de separação.

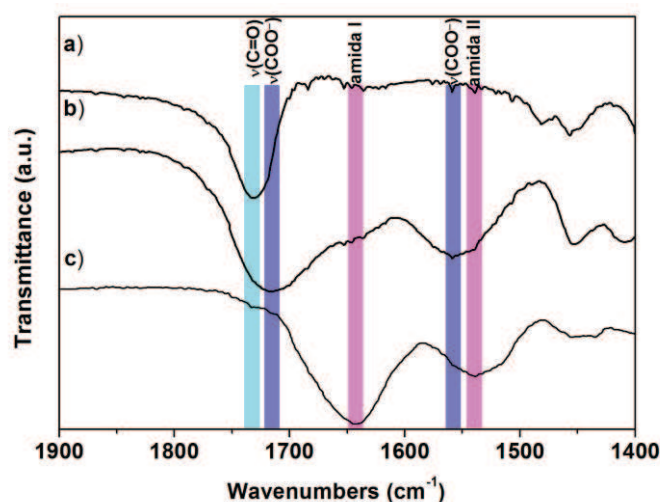


Figura 3.19. Espectros de FTIR dos nanocompósitos (a) antes, (b) depois da hidrólise e (c) após conjugação com anticorpos IgG.

Os espectros de FTIR na Figura 3.19 mostram claramente bandas a 1644 cm^{-1} (amida I) e 1538 cm^{-1} (amida II), atribuídos aos anticorpos ligados ao nanocompósitos magnéticos. Embora, tenha sido tentado a remoção dos anticorpos adsorvidos fisicamente, por lavagem dos nanocompósitos com soluções de força iônica crescente, conforme descrito na secção experimental, não pode ser descartada a presença de anticorpos adsorvidos fisicamente juntamente com anticorpos ligados covalentemente. Na verdade, numa experiência controlo em que não foi adicionado EDAC durante a mistura do anticorpo e o látex, observam-se bandas semelhantes nos espectros de FTIR, apesar de menor intensidade. Portanto, como confirmado pela análise de AFM, prepararam-se nanocompósitos magnéticos com anticorpos na superfície, que se esperam ligados ao mesmo tempo covalentemente e por adsorção física. Uma imagem de AFM representativa do látex magnético conjugado com anticorpos é representada na Figura 3.20. Em comparação com as partículas do nanocompósito original (Figura 3.7), após a etapa de ligação do anticorpo, o diâmetro das partículas aumentou ligeiramente, sugerindo um revestimento total das partículas por anticorpos. Além disso, pequenas saliências (tipicamente ca. 70 nm) foram sistematicamente observadas nestes nanocompósitos, mas não foram observados na experiência controlo em que o reagente

EDAC não foi adicionado, o que implica que estas saliências deverão estar relacionadas com a presença de anticorpos na superfície das partículas. Considerando que as dimensões típicas da molécula de IgG com forma de Y são aproximadamente 14,5 X 8,5 X 4,0 nm (altura X largura X espessura) [73] e uma vez que ambos os grupos amino e carboxílicos existem nas moléculas de anticorpos em aminoácidos de cadeias laterais e em N- e C- terminais de aminoácidos, a reticulação covalente envolvendo diferentes moléculas de anticorpos é possível. Como tal, sugerimos que agregados de anticorpos podem estar presentes na superfície das partículas.

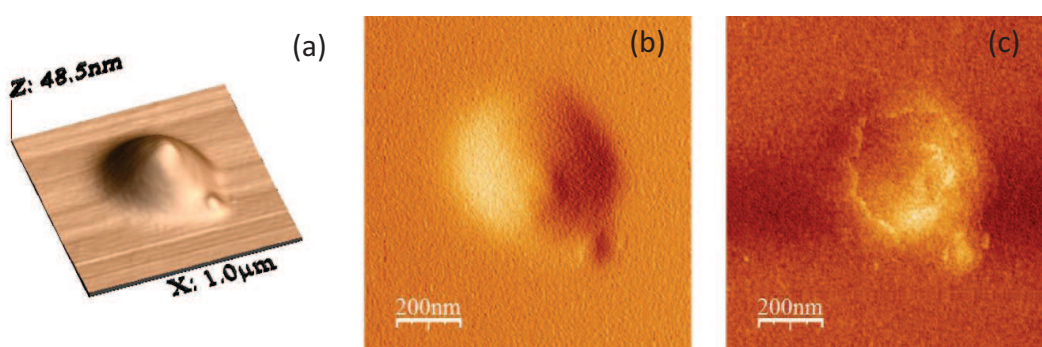


Figura 3.20. Imagens de AFM dos nanocompósitos após biofuncionalização com anticorpos, modos de: (a) topografia 3D, (b) amplitude e (c) fase.

3.4. Óxidos de Ferro: magnetite e maguemite

Os óxidos de ferro constituem uma vasta família de 16 minerais na forma de óxidos, hidróxidos e óxido-hidróxidos de ferro. Destes salientam-se as fases ferrimagnéticas de Magnetite (Fe_3O_4) e de Maguemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). A magnetite possui uma estrutura de espinela inversa contendo iões de Fe^{2+} e Fe^{3+} . A maguemite tem uma estrutura similar à da magnetite, no entanto, não possui iões Fe^{2+} . A alteração do estado de oxidação é compensada por lacunas catiónicas.

As partículas dos óxidos de ferro de magnetite e maguemite de dimensões nanométricas (geralmente de diâmetro inferior a 30 nm [74]), apresentam um comportamento tipicamente superparamagnético (SPIO, *superparamagnetic iron oxides*). Estas constituem

um dos mais importantes materiais magnéticos em aplicações biomédicas entre outras [74-76].

Neste trabalho, as NPs de maguemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) foram sintetizadas pelo método de Rockenberger e colaboradores [77], a partir da decomposição térmica de um complexo de ferro, cupferronato de ferro (FeCup_3 , $\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{N}(\text{NO})\text{O})_3$), numa mistura de TOA/OA. A decomposição de precursores de complexos metálicos de cupferronato permite a obtenção de NPs de óxidos metálicos com um grau elevado de monodispersidade e que são dispersáveis em meios orgânicos [77]. Na Figura 3.21 estão representadas as NPs de óxido de ferro (III) obtidas, cujo diâmetro médio é 7.8 ± 1.6 nm.

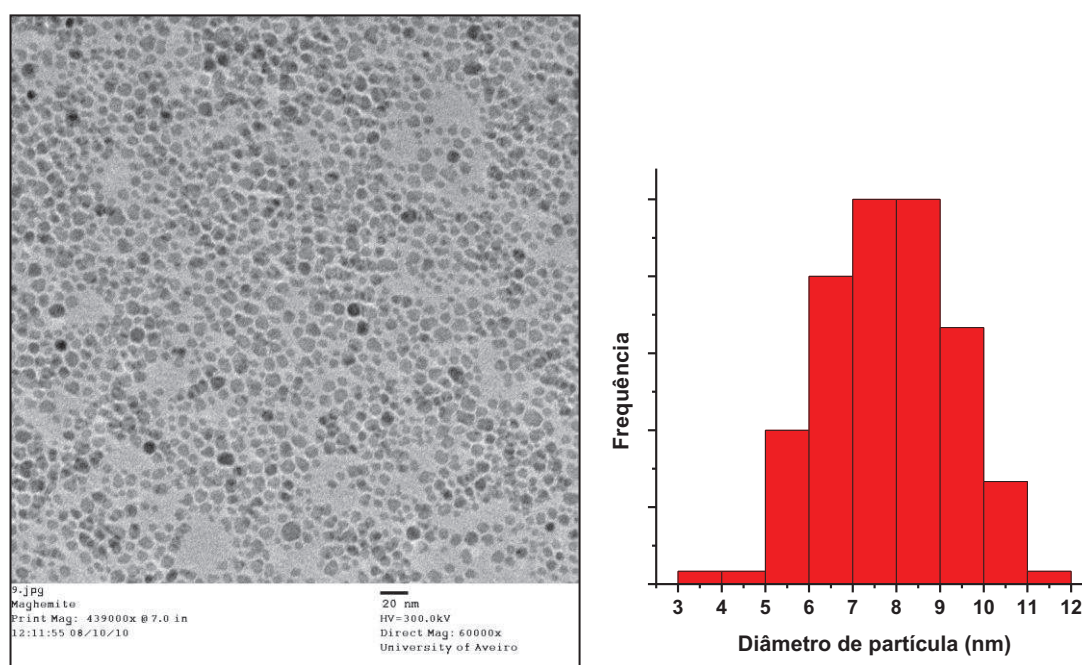


Figura 3.21. Imagem de microscopia de TEM de NPs de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e respectiva distribuição de tamanhos.

O difractograma raios-X de pós (Figura 3.22) confirma a presença da fase cristalina correspondente a um óxido de ferro, apesar de não permitir distinguir inequivocamente se a fase obtida se trata de magnetite, maguemite ou até uma mistura destas. As NPs de óxido de ferro foram obtidas por adaptação de um método de síntese descrito na literatura, no qual a fase obtida foi caracterizada como maguemite com uma estrutura tetragonal [77].

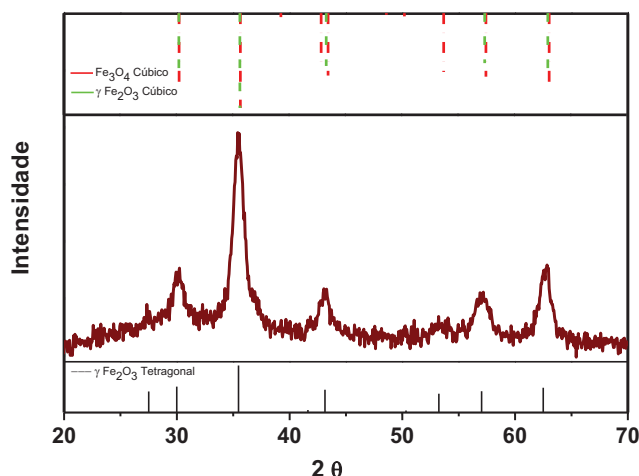


Figura 3.22. Difractograma de raios-X de pós de NPs de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

Tal como tinha sido observado para as NPs das ligas metálicas de FePt_3 e CoPt_3 , a presença das moléculas orgânicas de TOA e OA na superfície das NPs pode ser observada por espectroscopia de IV (FTIR). Na Figura 3.22 podemos observar, adicionalmente às bandas características das vibrações de elongação dos grupos (C-H) das cadeias alifáticas das moléculas de TOA e OA, na gama de $2980\text{-}2830\text{ cm}^{-1}$, as bandas correspondentes à presença do grupo (C=N-H): vibração de elongação do grupo (=N-H) a 3326 cm^{-1} ; vibração de elongação do grupo (C=N) a 1650 cm^{-1} e a deformação angular (C=N-H) a 1571 cm^{-1} [63]. Observa-se ainda uma banda forte a 581 cm^{-1} atribuída ao modo de elongação da vibração (Fe-O) [78].

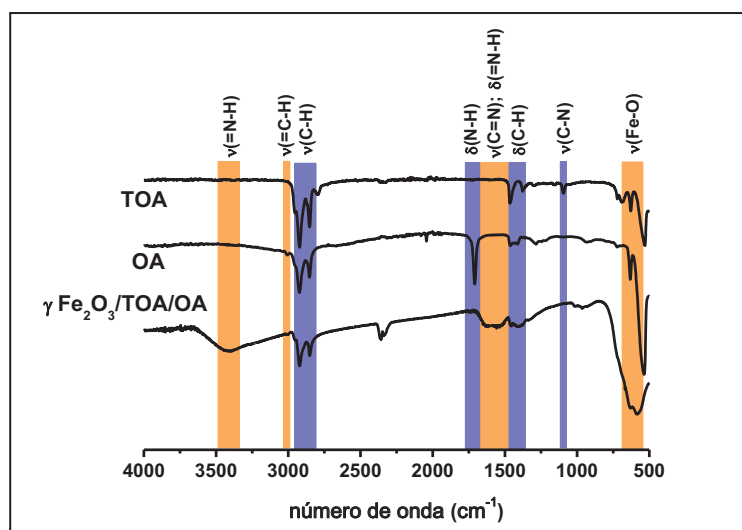


Figura 3.23. Espectro de FTIR de NPs de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ revestidas com moléculas de TOA e OA. Os espectros destas moléculas são apresentados para comparação.

Por sua vez, as NPs de magnetite foram sintetizadas por adaptação do método de Massart, procedendo à co-precipitação e redução de sais de Fe (II) e Fe (III) em meio alcalino (NaOH), tendo-se tornado a superfície das NPs hidrofóbica por reacção com ácido oléico [79]. As NPs obtidas apresentam um tamanho médio de 10.8 ± 2.5 nm (Figura 3.24). De notar a maior dispersão de tamanhos observada para estas NPs preparadas por este método.

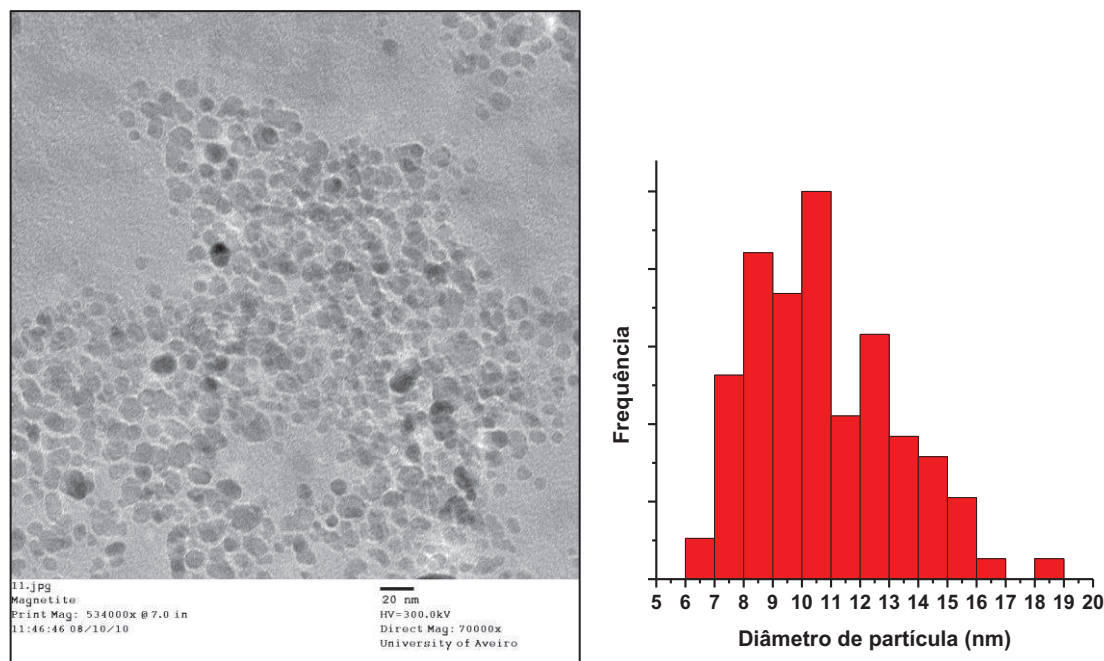


Figura 3.24. Imagem de microscopia de TEM de NPs de Fe_3O_4 e respectiva distribuição de tamanhos.

À semelhança do que tinha sido observado para as NPs de maguemite, a análise do difractograma de pós de NPs de magnetite não nos permite distinguir qual a fase cristalina presente (Figura 3.25). A distinção entre as fases magnéticas de óxidos de ferro, como seja magnetite e maguemite é intrincada a partir dos difractogramas de raios-X de pós em virtude de possuírem estruturas cristalinas similares. A espectroscopia de Mössbauer é uma das mais importantes técnicas que permitem distinguir entre as fases de magnetite e maguemite [80]. Esta técnica dá informações sobre pequenas variações dos níveis de energia dos núcleos atómicos, em resposta ao seu ambiente. No caso da magnetite, o espectro de Mössbauer consiste em dois sextetos, um correspondente aos sítios tetraédricos e outro correspondente aos sítios octaédricos. Para o caso da

maghemite, o espectro tem apenas um sexteto, indicando que os sítios octaédricos e tetraédricos são similares [80].

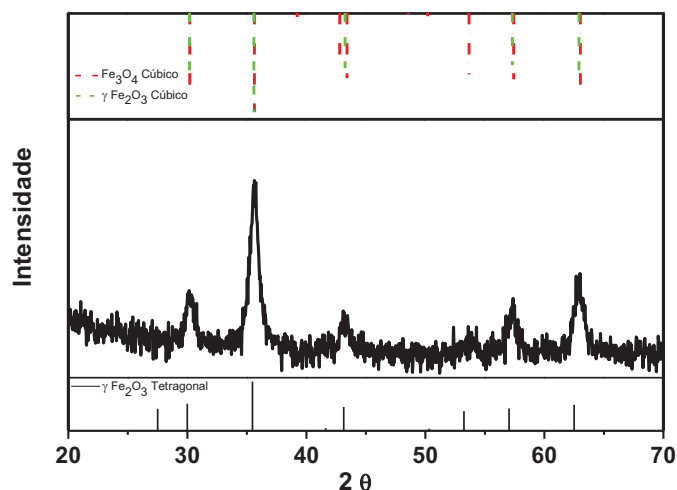


Figura 3.25. Difractograma de raios-X de pós de NPs de Fe_3O_4 .

No entanto, no âmbito deste trabalho a prioridade era estudar a natureza do agente estabilizante das NPs de óxido de ferro (no caso da maghemite, TOA e OA, e no caso da magnetite, OAc), pelo que não foi realizada nenhuma tentativa de clarificar quais as fases cristalinas presentes.

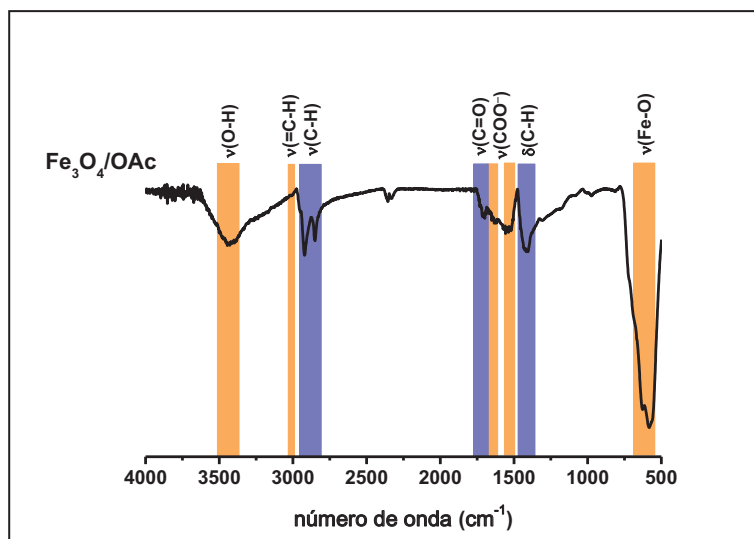


Figura 3.26. Espectro de FTIR de NPs de Fe_3O_4 revestidas com moléculas de OAc.

No caso das NPs de magnetite, para além da vibração forte observada a 581 cm^{-1} atribuída ao modo de elongação da vibração (Fe-O) do óxido de ferro [78], são observadas as bandas relativas aos modos de elongação, a 2921 e 2847 cm^{-1} e de

deformação, a 1415 cm^{-1} dos grupos (C-H) da cadeia carbonada do ião oleato (Figura 3.26). A 1630 e 1542 cm^{-1} são observadas as bandas de alongação dos grupos carboxilato (COO^-), correspondentes às moléculas de oleato coordenadas à superfície das NPs. A presença simultânea de moléculas de OAc pode ser deduzida pela existência de uma banda de alongação relativa ao grupo (C=O) a 1704 cm^{-1} , frequência que é característica das moléculas de ácido oleico livre [81, 82].

3.5. Compósitos óxidos de ferro – polímero

A estratégia usada para o encapsulamento das NPs magnéticas de óxidos de ferro em partículas de polímero, à semelhança do reportado nas secções anteriormente para os NCps de ligas metálicas, foi a de polimerização *in situ* por miniemulsão de dispersões estáveis de NPs na solução de monómero. A presença de moléculas estabilizantes na superfície das NPs, permite a formação de suspensões de NPs estáveis, sem a necessidade de agentes tensioactivos adicionais. A agitação vigorosa e posterior sonicação da mistura das gotas de monómero dispersas na solução aquosa do agente tensioactivo (SDS) dá origem a uma miniemulsão estável. A reacção de polimerização ocorre então por adição de um iniciador solúvel na fase aquosa (KPS). O látex final apresenta-se homogéneo com uma cor castanha, resultante da dispersão das NPs dos óxidos de ferro e consiste de uma mistura de partículas NCps e partículas puras de polímero, podendo obter-se a primeira fracção mais concentrada por separação magnética.

A Figura 3.27 mostra a imagem de TEM de NCps de maguemite-PtBA. Podemos observar que o NCp obtido, após separação magnética, é constituído por partículas de polímero e por pequenos agregados de NPs de maguemite. Neste caso, e contrariamente aos outros exemplos de NCps apresentados nesta tese, podemos observar a completa segregação das NPs de maguemite.

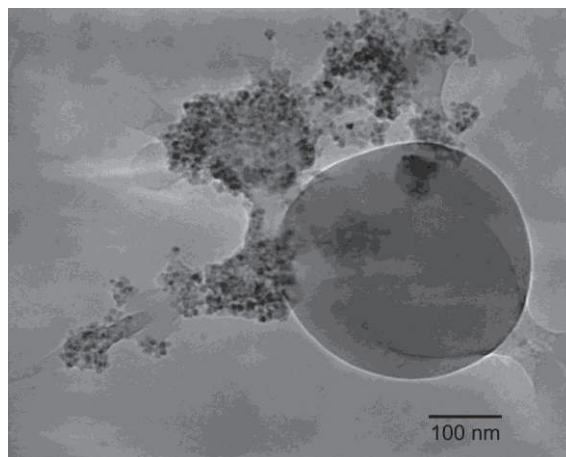


Figura 3.27. Imagem de TEM dos NCps de magemite-PtBA obtidos por miniemulsão.

Os métodos de encapsulamento de NPs inorgânicas em matrizes poliméricas apresentados até agora têm incidido principalmente em métodos de polimerização *in situ* por miniemulsão. Tem sido evidente até este ponto que a morfologia das estruturas obtidas depende de diversos factores, nomeadamente do tipo de NP, natureza dos estabilizantes na superfície das mesmas ou do monómero utilizado, embora os resultados obtidos até este momento não nos permitam estabelecer uma relação entre estes factores e as morfologias obtidas.

Como já referido anteriormente, a migração das NPs inorgânicas para a superfície das partículas de polímero durante o processo de polimerização por miniemulsão, poderá ser o resultado de dois mecanismos distintos: se por um lado, é possível a ocorrência de interacções específicas entre o estabilizante das NPs e o agente tensioactivo das gotas de monómero [41, 42], por outro, poderão surgir interacções entre as NPs e as cadeias poliméricas, das quais resultam diferenças de imiscibilidade das NPs nas diferentes matrizes poliméricas [53]. Ainda a este respeito e já no contexto desta tese (capítulo 2), pode suceder que as diferenças na imiscibilidade das NPs na matriz, no decorrer do processo de polimerização, sejam dependentes da temperatura de transição vítrea (T_g) da matriz polimérica. Este efeito de temperatura repercute-se na diferente mobilidade das NPs entre as cadeias poliméricas, pelo facto de a polimerização *in situ* ocorrer à temperatura de 70° C que pode estar acima ou abaixo da T_g da matriz polimérica utilizada (por exemplo, PtBA T_g = 43° C e PS T_g = 117° C).

Neste contexto, procedeu-se ao estudo sistemático de NCps magnéticos de NPs de magnetite em diferentes matrizes poliméricas, em termos das morfologias finais observadas. As NPs de magnetite foram escolhidas como NPs de carga modelo (e não de magnetite) devido à simplicidade do método de síntese, e à possibilidade de obter uma quantidade razoável de NPs no mesmo lote reaccional. Por outro lado, a grande quantidade de publicações relatando a formação de NCps destas NPs por polimerização em miniemulsão, fornece um extenso número de sistemas para comparação.

Numa primeira fase, o efeito de diferentes matrizes poliméricas na morfologia final dos NCps foi avaliada. Nesse sentido, os NCps de magnetite em PtBA ($T_g = 43^\circ \text{C}$), PnBA (Poli-acrilato de butilo; $T_g = -57^\circ \text{C}$), PS (Poli-estireno; $T_g = 117^\circ \text{C}$) e PMMA (Polimetilmetacrilato; $T_g = 105^\circ \text{C}$), foram preparados em condições similares pelo método de polimerização *in situ* por miniemulsão. É possível deduzir das imagens de STEM e TEM (Figura 3.28), que a morfologia dos NCps obtidos por miniemulsão para as diferentes matrizes poliméricas é quase invariavelmente constituída por partículas de polímero com NPs de magnetite segregadas para a superfície. Comparativamente aos NCps de maguemite em PtBA (Figura 3.27), a substituição das NPs de carga (de maguemite para magnetite) é acompanhada pela substituição simultânea das moléculas estabilizantes à superfície das NPs (de TOA/OA para OAc). No entanto, este facto não parece exercer um efeito significativo na morfologia dos NCps obtidos, observando-se ainda a distribuição das NPs magnéticas maioritariamente na superfície do NCp.

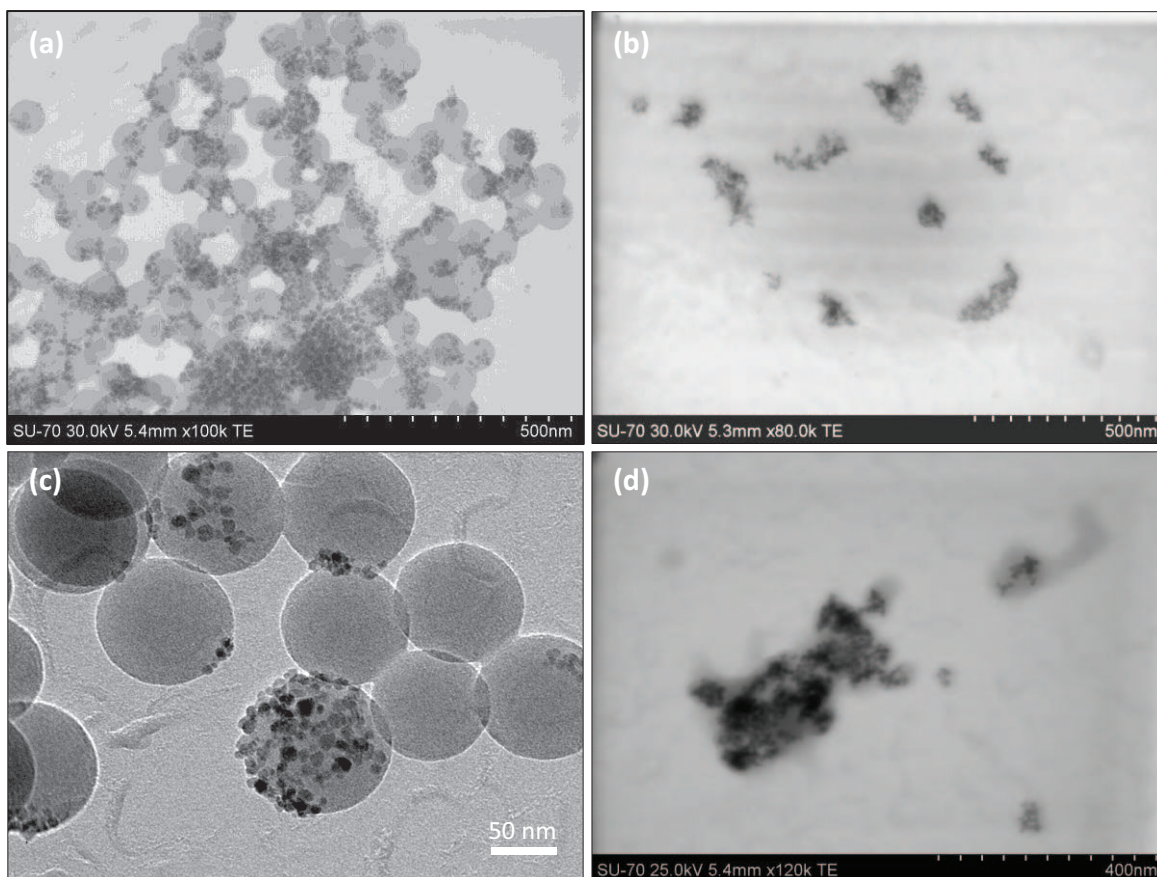


Figura 3.28. Imagens de STEM dos NCps de: (a) magnetite-PtBA (b) de magnetite-PnBA e (d) magnetite-PMMA e (c) imagem de TEM do NCp de magnetite-PS, obtidos por miniemulsão.

No processo de polimerização *in situ* por miniemulsão na presença de uma carga inorgânica (Figura 3.29), a fase orgânica é constituída pelo monómero, agente hidrófobo e pelas NPs estabilizadas com moléculas orgânicas, enquanto a fase aquosa contém o agente tensioactivo. As etapas que constituem a mistura dos vários componentes do sistema, com a formação das gotas de monómero e ajuste de tamanhos por sonicação estão agrupados no passo designado de miniemulsificação. Deste passo resultam gotas de monómero com uma distribuição de tamanhos homogénea e estreita e diz-se que o sistema atinge um estado de equilíbrio. As gotas de monómero encontram-se estabilizadas pelo tensioactivo, que previne o crescimento das partículas por coalescência, e também pelo hidrófobo, que limita a difusão do monómero na solução aquosa, prevenindo o mecanismo de crescimento por engrossamento de Ostwald. Após a adição dos iniciadores de radicais livres e aumento da temperatura inicia-se a polimerização. Na polimerização por miniemulsão, as gotas de monómero funcionam

como nanoreactores onde ocorre a polimerização. É de prever que as NPs se encontrem dispersas nas gotas de monómero, pelo menos nos momentos iniciais da polimerização.

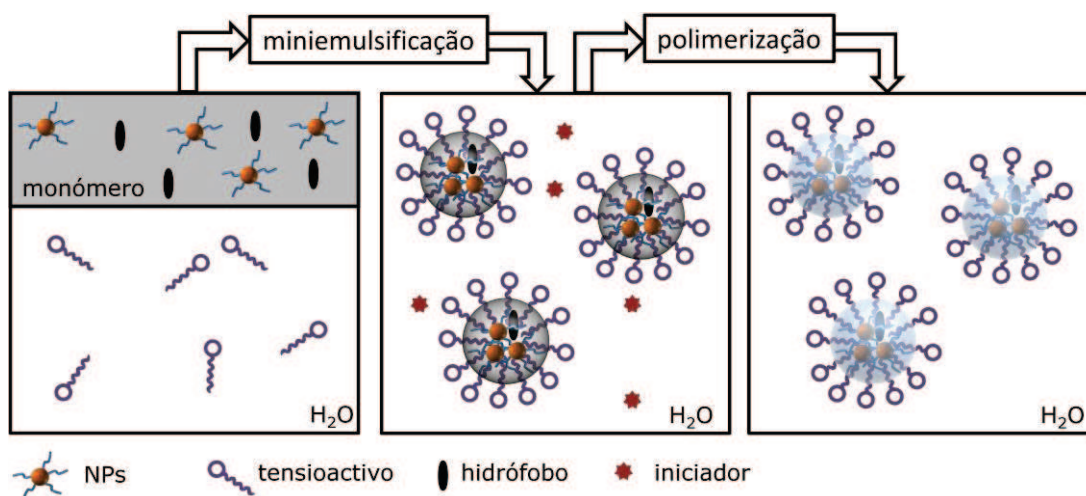


Figura 3.29. Representação esquemática do encapsulamento de NPs através do processo de polimerização por miniemulsão.

Comparativamente ao processo convencional de polimerização em miniemulsão, a introdução de NPs na solução de monómero tem como consequência a formação de uma distribuição bimodal de tamanhos, uma correspondendo às partículas de polímero livre e outra referente a partículas compósitas [83]. Este facto constitui uma das desvantagens do método de encapsulamento de NPs por polimerização em miniemulsão convencional, tornando difícil o controlo da quantidade de NPs magnéticas nas partículas compósitas [84].

No processo de encapsulamento de NPs por um método de polimerização *in situ* em miniemulsão, podem ser manipulados vários parâmetros de forma a tentar melhorar a distribuição das NPs no interior das partículas de polímero. No entanto, a morfologia das partículas NCps obtidas variando os parâmetros listados na Tabela 3.1, resultou, para os NCps de NPs de maguemite e magnetite, quase invariavelmente em morfologias similares ao apresentado nas Figuras 3.27 e 3.28.

As NPs no interior das gotas de monómero, devido à grande diferença de tamanho ($V_{NP} \ll V_{NCp}$), encontram-se num sistema de elevada mobilidade. A distribuição das NPs nas partículas compósitas de polímero poderá resultar de interações específicas entre as

NPs e o monómero/oligómero/polímero, do que resulta diferenças de dispersibilidade, no decorrer do processo de polimerização.

Tabela 3.1. Condições experimentais estudadas para a preparação de NCps por polimerização em miniemulsão convencional.

Nanocompósitos		Condições	Observações
Au/PtBA	Natureza das NPs	Au	O encapsulamento foi observado para as NPs de
CoPt ₃ /PtBA, FePt ₃ /PtBA		CoPt ₃ , FePt ₃	Au/TOA/OA e de
γ -Fe ₂ O ₃ /PtBA, Fe ₃ O ₄ /PtBA		γ -Fe ₂ O ₃ , Fe ₃ O ₄	CoPt ₃ /TOA/OA
CdSe/ZnS-PtBA		CdSe/ZnS	
Fe ₃ O ₄ /PS	Concentração NPs	Diferentes cargas de NPs de Fe ₃ O ₄	O efeito da quantidade de carga de NPs foi avaliado
Au/PtBA	Estabilizantes	TOA/OA, TOPO e AcO	Utilizaram-se aminas, fosfinas e ácidos carboxílicos como estabilizantes das NPs
Fe ₃ O ₄ /PS			
Fe ₃ O ₄ /Polímero	Monómero/polímero	PtBA, PnBA, PS e PMMA	Utilizaram-se diferentes matrizes poliméricas
Fe ₃ O ₄ /PS	Tensioactivo	SDS ou CTAB	O SDS é aniónico enquanto o CETAB é catiónico
Fe ₃ O ₄ /PS	Iniciador	KPS ou AIBN	Utilizou-se iniciador solúvel em água (KPS) ou no monómero (AiBN)
Fe ₃ O ₄ /PS	Hidrofobo	HD e CA	Hidrofobos com diferente solubilidade em água

No mecanismo de segregação das NPs de magnetite, uma forma de analisar a influência da matriz polimérica excluindo o efeito do agente tensioactivo, poderá passar pelo estudo da evolução da polimerização em bloco de suspensões diluídas de NPs. A polimerização em bloco foi realizada a partir de suspensões de NPs de magnetite (estabilizadas apenas com OAc) nos respectivos monómeros, cujo teor de NPs foi mantido constante, utilizando um iniciador solúvel na fase orgânica (AIBN).

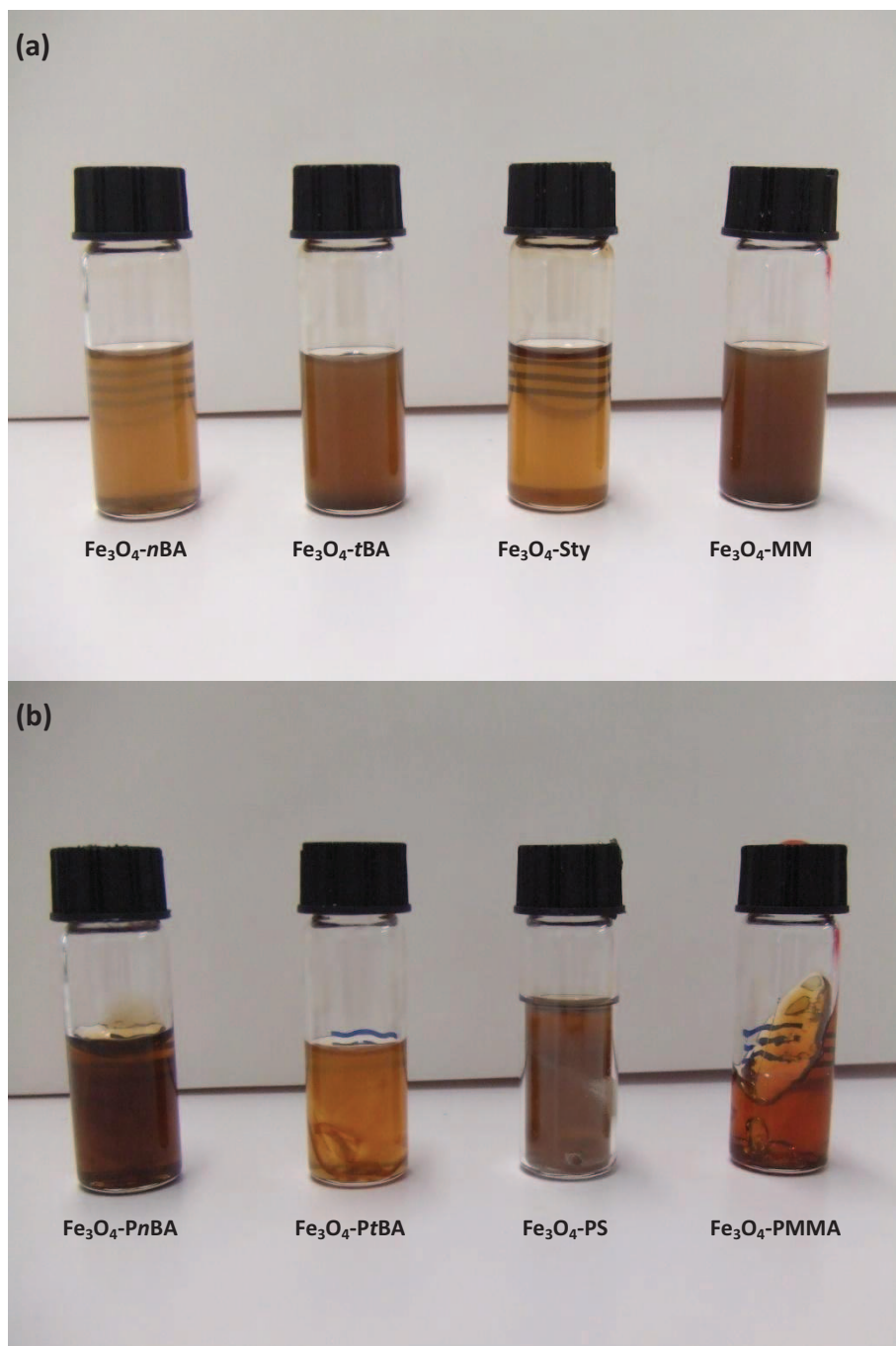


Figura 3.30. (a) Suspensões de NPs de magnetite nos diferentes monómeros e (b) respectivos compósitos poliméricos com magnetite.

Comparativamente ao processo de polimerização por miniemulsão apresentado anteriormente, salientamos as seguintes diferenças: i) ausência de agente tensoactivo; ii) elevada dispersão de NPs, de forma a minimizar a interacção entre NPs; iii) o uso de iniciador solúvel na fase orgânica e iv) ausência de agitação mecânica.

Na Figura 3.30 observa-se a evolução da dispersibilidade das NPs de magnetite nos diferentes monómeros (*n*BA, *t*BA, Sty e MM) e respectivos polímeros (*Pn*BA, *Pt*BA, PS e PMMA). Apesar da homogeneidade observada para as suspensões de magnetite nos diferentes monómeros, é evidente que esta ocorre em diferentes graus, podendo ser ordenada, por inspeção visual da seguinte forma: $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Sty} > \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-}n\text{BA} > \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-}t\text{BA} \geq \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MM}$. Mais importante ainda é a evolução distinta da dispersibilidade das NPs após o processo de polimerização: $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA} > \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PtBA} > \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PnBA} \geq \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PS}$.

O grau de agregação das NPs nas soluções dos monómeros e nos polímeros foi estimado considerando o valor da densidade óptica (OD) dos respectivos espectros de UV-Vis a um valor do comprimento de onda em que não ocorre absorção por parte dos componentes (monómeros e polímeros) e uma absorção reduzida por parte da magnetite. Admitindo que esta contribuição é reduzida, uma vez que o teor de magnetite é o mesmo, o aumento observado para a densidade óptica será atribuído a fenómenos de dispersão da radiação. Este procedimento foi reportado para estimar a agregação de NPs de ZnO em diferentes matrizes poliméricas [85]. Define-se assim um índice de turbidez pela quantidade de radiação que é transmitida pela amostra a um comprimento de onda em que esta não apresenta tipicamente uma absorção significativa, deste modo a diminuição de luz transmitida poderá ser relacionada com o grau de agregação das NPs. Considera-se uma boa dispersão para valores baixos de OD. A variação do índice de turbidez ocorre da seguinte forma, para as suspensões: $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Ciclohexano} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Sty} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-}n\text{BA} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-}t\text{BA} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MM}$, e para os materiais compósitos: $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PtBA} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PnBA} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PS}$. Esta variação do índice de turbidez suporta a variação de dispersibilidade observada na Figura 3.30.

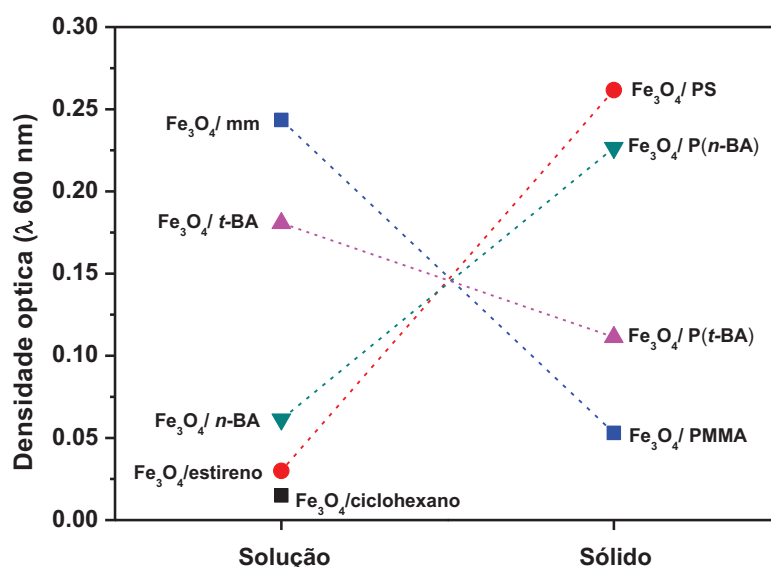


Figura 3.31. Densidade óptica (determinada a $\lambda = 600 \text{ nm}$) para as NPs de magnetite dispersas em solução dos diferentes monómeros e dos NCps sólidos após polimerização em bloco.

Os resultados anteriores permitem-nos identificar duas situações extremas, por um lado a suspensão que apresenta melhor dispersibilidade das NPs no monómero evolui para um material compósito cuja dispersibilidade é a pior, com a formação evidente de agregados ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Sty}$ para $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PS}$). Por outro lado, a suspensão que apresentava inicialmente um estado de agregação maior evolui para um material transparente, o que revela a excelente dispersibilidade das NPs nesta matriz ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MM}$ para $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA}$). Os NCps de acrilato de butilo, apresentam uma evolução semelhante aos anteriores mas distinta entre si: enquanto a formação do NCp de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PtBA}$ é acompanhado por uma melhor dispersibilidade das NPs, comparativamente à suspensão inicial, a formação do NCp de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PnBA}$ resulta de uma agregação significativa das NPs.

Podemos sugerir que a mobilidade das NPs, resultante da maior ou menor interação com as cadeias poliméricas, está na origem das morfologias observadas para os NCps de maguemite e magnetite. Uma forma de reduzir a mobilidade das NPs, durante o processo de polimerização, pode ser conseguida separando os processos de formação das micelas de NPs do processo de polimerização. Este processo de polimerização, constituído por duas etapas, é aqui designado de polimerização diferencial.

No processo de polimerização diferencial (Figura 3.32), pequenos agregados de NPs de natureza hidrofóbica, são inicialmente estabilizados em água por acção de agentes tensioactivos, formando-se micelas. Este processo é paralelo ao processo de transferência de fase, com a formação de uma dupla camada de tensioactivos, por interacção entre os agentes estabilizantes das NPs e os tensioactivos utilizados comumente nos processos de polimerização em emulsão. Este passo é designado por micelização (Figura 3.32).

À miniemulsão de NPs estabilizadas em água é adicionado o monómero que é imiscível com a solução aquosa. Por adição do iniciador e aumento de temperatura, a polimerização é iniciada e são formados pequenos oligómeros. Estes oligómeros migram pelo meio aquoso até à superfície das micelas de NPs, depositando-se na interface entre o estabilizante das NPs e o agente tensioactivo da miniemulsão [53]. Este tipo de polimerização é semelhante à polimerização em emulsão e por vezes é igualmente designada de polimerização tipo emulsão [86]. Desta forma é limitada a penetração do monómero nos espaços interpartículas e portanto a dispersibilidade das NPs pelo monómero.

Um caso particular deste tipo de polimerização consiste na introdução do monómero na forma de gotas de dimensões micrométricas, o que permite controlar a difusão do monómero/oligómeros no meio aquoso. Para este fim, o monómero é introduzido na forma de uma emulsão, estabilizada pelo mesmo agente tensioactivo e contendo um agente hidrófobo. A difusão do monómero é garantida pela grande diferença de tamanhos entre as micelas de NPs (~ 100 nm) e a emulsão de monómero (~ 3.7 μ m) [79].

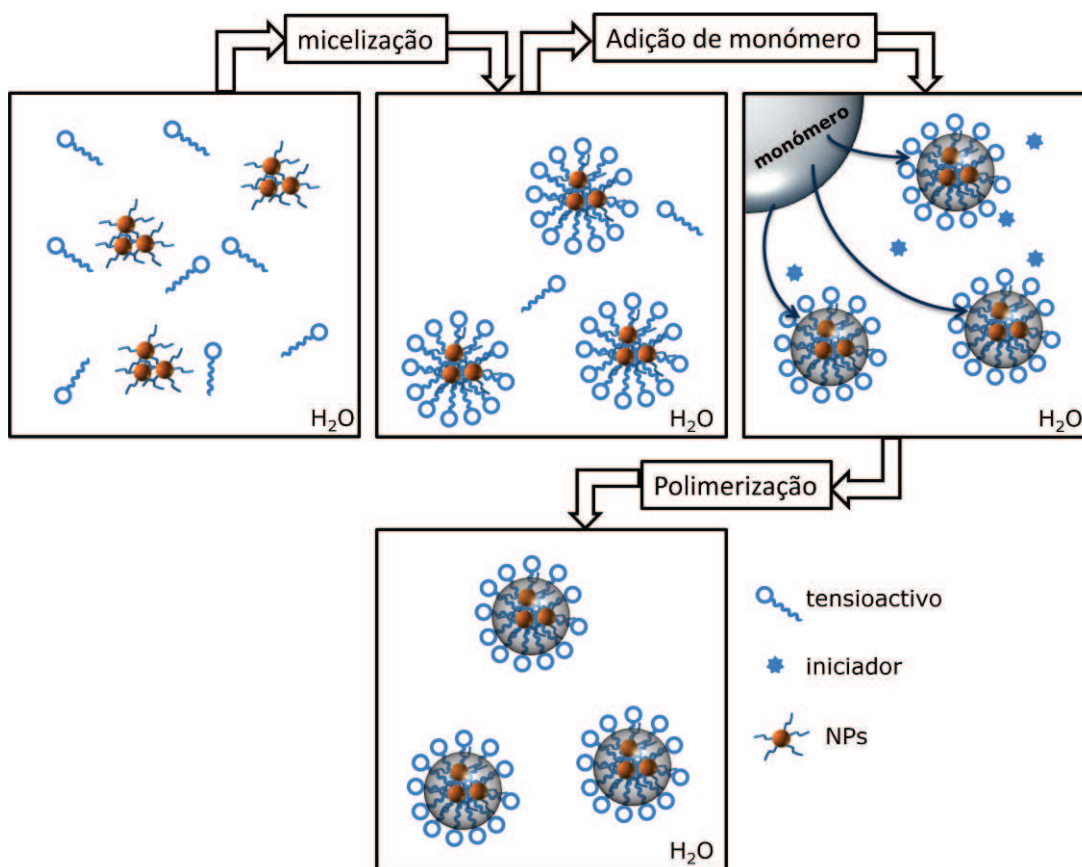


Figura 3.32. Representação esquemática do processo de polimerização por miniemulsão diferencial.

Na Figura 3.33 (a-h) apresentam-se as imagens dos NCps de magnetite em diferentes matrizes poliméricas, obtidos pelo método de polimerização por miniemulsão diferencial. O encapsulamento de agregados de NPs de magnetite por uma capa polimérica pode ser observado para o caso dos NCps de magnetite-PMMA (Figura 3.33 a, b) e magnetite-PnBA (Figura 3.33 c, d). Para o caso dos NCps de magnetite-PtBA e magnetite-PS (Figura 3.33 e-h), a migração das NPs de magnetite para a superfície das partículas de polímero é ainda significativa. Para estes NCps a penetração das cadeias poliméricas nos espaços inter-particulares é ainda significativo, do que resulta as estruturas observadas.

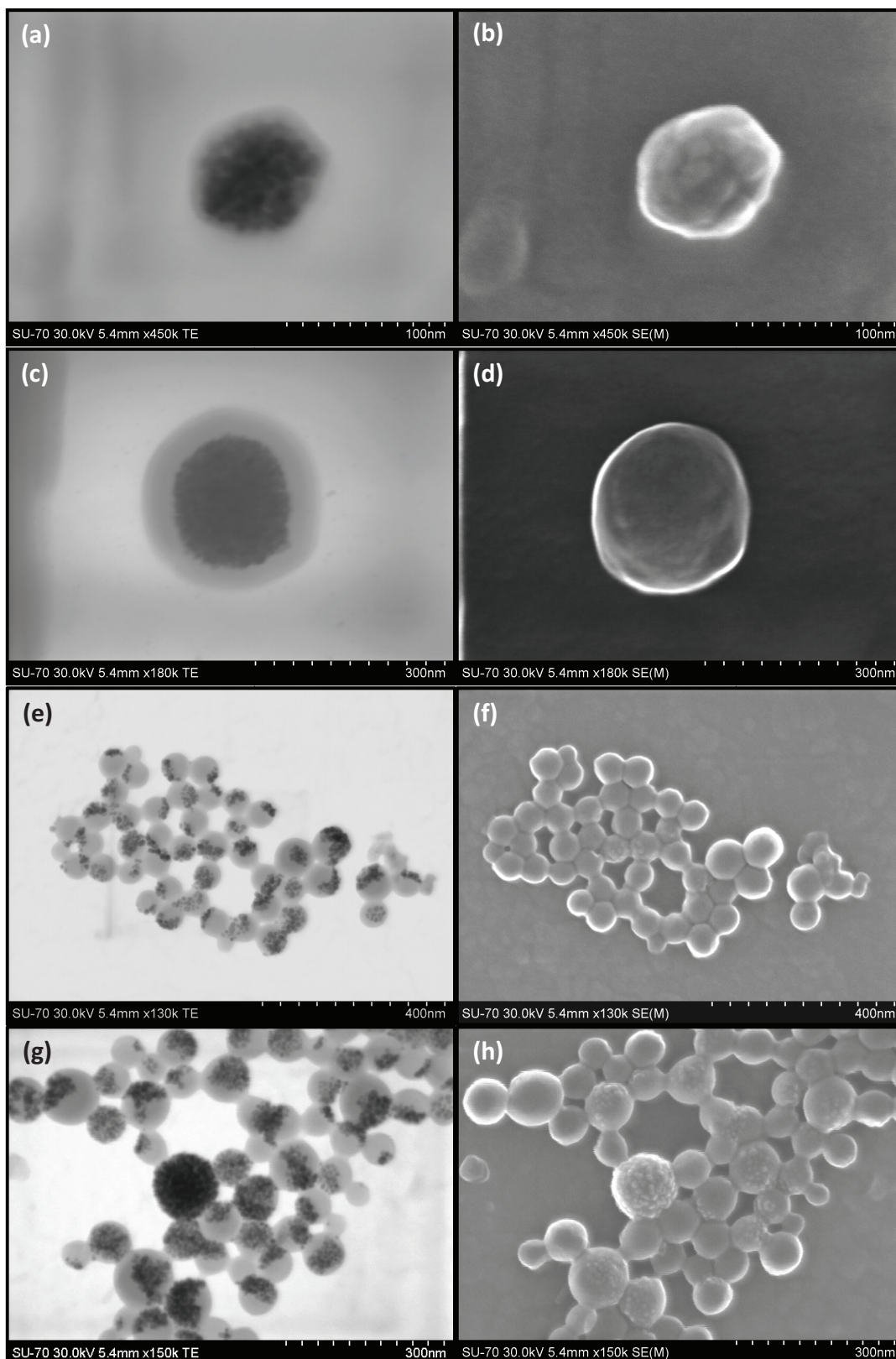


Figura 3.33. Imagens de STEM (coluna da esquerda) e SEM (coluna da direita) de (a) e (b) NCp de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA}$; (c) e (d) NCp de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PnBA}$; (e) e (f) NCp de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PtBA}$ e (g) e (h) NCp de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PS}$ obtidos por polimerização por miniemulsão diferencial.

De forma a avaliar o efeito do encapsulamento (ou não) das NPs em matrizes poliméricas, nas propriedades magnéticas dos NCps obtidos, realizou-se uma caracterização mais completa de um polímero para o qual surgem os dois tipos de morfologias: uma morfologia do tipo núcleo/corona ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA-CS}$) e o correspondente NCp em que as NPs se encontram à superfície ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA}$).

Os espectros de IV (FTIR) dos NCps mostram a coexistência das bandas relativas aos modos vibracionais dos grupos característicos da matriz polimérica, PMMA, e o modo de elongação (Fe-O) do óxido de ferro (Figura 3.34).

O teor de NPs magnéticas nos NCps determinado por termogravimetria é de 83% (m/m) para o caso do NCp de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA-CS}$ enquanto o NCp obtido por miniemulsão ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-PMMA}$) apresenta 47%. Estas diferenças são também observadas no espectro de FTIR, reflectindo-se na intensidade relativa das bandas características da matriz polimérica e do óxido de ferro.

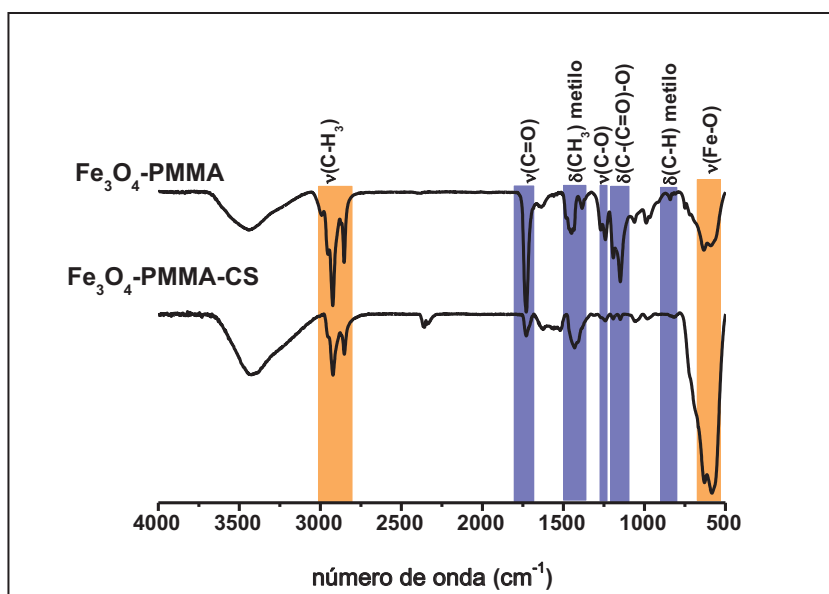


Figura 3.34. Espectro de FTIR dos NCps de magnetite em PMMA obtidos por miniemulsão normal ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{/PMMA}$) e diferencial ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{/PMMA-CS}$).

Propriedades magnéticas

A dependência da susceptibilidade χ (dc) com a temperatura é característica de partículas superparamagnéticas (Figura 3.35). As amostras apresentam um valor máximo da curva ZFC (designado de temperatura de bloqueio, T_B) correspondente à temperatura acima (ou abaixo) da qual as NPs de dimensões “médias” são capazes (ou incapazes) de flutuar entre valores mínimos do perfil de energia, ultrapassando a barreira de energia de anisotropia (Figura 3.13). O processo é irreversível termicamente (desfasamento entre as curvas de ZFC e FC) para a gama de temperaturas consideradas. A curva FC é aproximadamente constante, o que é associado geralmente à existência de interações dipolares relevantes [87].

Os valores da temperatura de bloqueio T_B são 253 K, 230 K e 274 K para as amostras de NPs de Fe_3O_4 e dos NCps de Fe_3O_4 -PMMA e Fe_3O_4 -PMMA-CS, respectivamente. A diminuição de T_B quando comparamos o NCp de Fe_3O_4 -PMMA com as correspondentes NPs isoladas pode ser compreendida como resultado de uma diminuição da barreira de energia de anisotropia efectiva devido á diminuição da intensidade das interações dipolares, já que a distância média entre NPs aumenta. Este comportamento foi demonstrado experimentalmente para o caso de interações fracas [87, 88].

A origem do aumento de T_B entre as NPs e o NCp de Fe_3O_4 -PMMA-CS não é tão claro e será discutido simultaneamente com os dados relativos à magnetização.

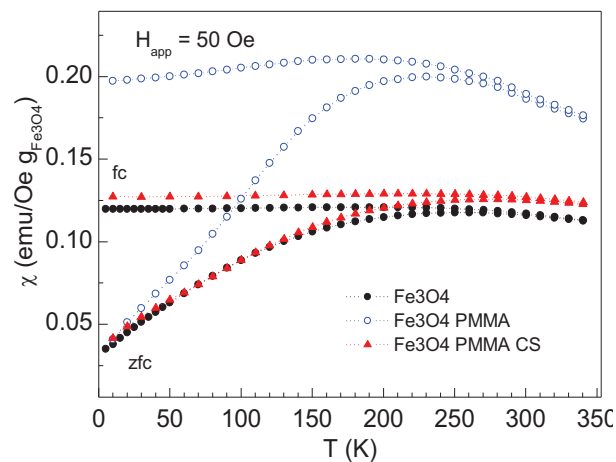


Figura 3.35. Dependência da susceptibilidade magnética dc com a temperatura.

A $T = 300$ K, a remanescência e campo coercivo das NPs são insignificantes, como seria de esperar devido à baixa irreversibilidade térmica da susceptibilidade observada. As NPs de magnetite apresentam uma magnetização de saturação M_s entre $71.6 \text{ emu/g_Fe}_3\text{O}_4$ e $76 \text{ emu/g_Fe}_3\text{O}_4$, abaixo do valor esperado para o respectivo material macrocristalino ($92\text{-}100 \text{ emu/g_Fe}_3\text{O}_4$ [80]) (Figura 3.36). Este cenário é típico de muitos casos em que uma redução de tamanho origina uma redução de M_s quando comparado com o material macrocristalino, sendo atribuído a efeitos de desordem de spin [89], embora outros efeitos como desordem ou oxidação superficial são também plausíveis. No caso da fase maghemite, a redução de M_s com o tamanho é compatível com uma estrutura modelo que consiste de um núcleo do tipo macrocristalino e uma capa de espessura constante, magneticamente inerte [90]. Por outro lado, tem sido também reportado que a coordenação covalente de moléculas de tensioactivos, como por exemplo, o ácido oléico, na superfície das NPs provoca uma forte redução da desordem de *spin* na superfície, promovendo valores de M_s superiores [91]

A coincidência entre os valores de M_s das amostras das NPs e do NCp de Fe_3O_4 -PMMA sugere que o processo de dispersão/polimerização não afecta a superfície das NPs (não ocorrendo, por exemplo, oxidação da superfície) e suporta o modelo em que a variação da energia de anisotropia efectiva é devido a modificações das interacções dipolares e não a interacções entre partículas.

Por outro lado, a inclusão de NPs numa estrutura de núcleo-coroa na matriz de PMMA, origina um aumento inesperado de M_s . A origem deste fenómeno não é clara e um estudo mais aprofundado seria necessário. Possíveis explicações para este facto poderão ser: a incorporação selectiva de NPs de maiores dimensões ou reconstrução da superfície das NPs.

A dependência de $M(H)$ pode ser descrita por uma função de Langevin [92, 93] considerando uma distribuição lognormal:

$$M(H, T) = N \int_{\mu_{min}}^{\mu_{max}} \mu L\left(\frac{\mu H}{kT}\right) f(\mu) d\mu \quad (3.4)$$

$$f(\mu) = \frac{1}{\mu * s\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{\left(\log\left(\frac{\mu}{n}\right)\right)^2}{2s^2}} \quad (3.5)$$

em que n é a densidade de partículas, μ é o momento da partícula e $f(\mu)$ a função de distribuição normalizada. O ajuste aos valores experimentais dá origem a: $\langle\mu\rangle=6450 \mu_B$ $s=1.47$ para as NPs de Fe_3O_4 e para as amostras NCps Fe_3O_4 -PMMA e $\langle\mu\rangle=7930 \mu_B$ $s=1.14$ para a amostra NCp de Fe_3O_4 -PMMA-CS. Estes valores são uma estimativa dos valores reais, tendo em conta que efeitos relevantes como interações dipolares e anisotropia são desprezados por esta abordagem. De qualquer forma, considerando que $M_s=N\langle\mu\rangle$ e desde que N está relacionado directamente com o inverso do volume e considerando NPs esféricas, obtêm-se o diâmetro de 6.8 nm para as NPs de Fe_3O_4 e NCp de Fe_3O_4 -PMMA e de 7.1 nm para o NCp de Fe_3O_4 -PMMA-CS. Estes valores são cerca de 3 – 4 nm inferiores aos diâmetros médios determinados por TEM, o que pode ser entendido à luz de um modelo núcleo/coróa, em que a coróa apresenta uma espessura de 1.5 – 2 nm. De facto, a formação de uma capa na ordem de 1 nm tinha sido já estimada para NPs de maguemite [90].

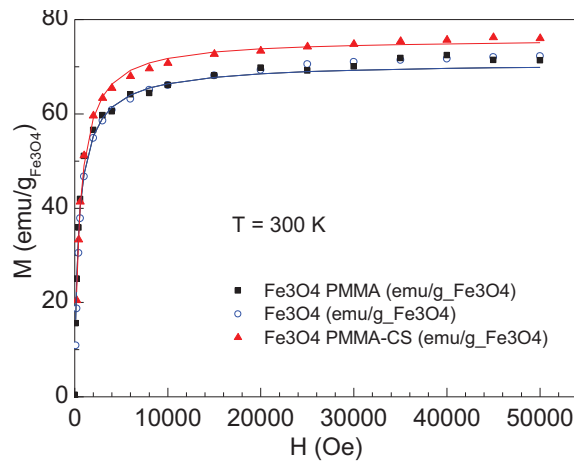


Figura 3.36. Gráficos da magnetização em função do campo magnético a T=300 K. As linhas representam o ajuste como descrito no texto.

3.6. Conclusões

Neste capítulo foi descrita a preparação de látexes magnéticos, por encapsulamento de NPs magnéticas passivadas com moléculas orgânicas, utilizando um método de polimerização *in situ* em miniemulsão. Foram sintetizadas NPs de ligas metálicas de cobalto - platina (CoPt_3) e ferro - platina (FePt_3), assim como de óxidos de ferro (magnetite, Fe_3O_4 e maguemite, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) e respectivos nanocompósitos poliméricos.

Dos materiais preparados, os nanocompósitos de CoPt_3 -PtBA apresentavam uma estrutura do tipo núcleo-coroa, com as NPs magnéticas organizadas em agregados no interior das esferas de polímero. O polímero seleccionado (PtBA) possui grupos poliéster que podem ser facilmente hidrolisados, introduzindo grupos carboxílicos à superfície que permitem a conjugação com estruturas biológicas. A estratégia aqui descrita constitui uma via interessante de desenvolver materiais NCps com potencial aplicação em ensaios de separação magnética e análise de entidades biológicas *in vitro*, que pode ser estendido a outros materiais magnéticos. Como prova de conceito, demonstramos aqui a bioconjugação de anticorpos IgG de origem bovina à superfície hidrolisada de NCps de CoPt_3 /PtBA.

Embora tenha sido observado o encapsulamento de NPs de CoPt_3 em matrizes de PtBA, utilizando a estratégia de miniemulsão convencional, no caso dos nanocompósitos de FePt_3 e maguemite foi observada uma migração significativa das NPs para a superfície das partículas poliméricas e até a sua segregação. No sentido de tentar clarificar o aparecimento destas morfologias, as NPs magnéticas de magnetite e maguemite foram utilizadas como materiais de carga modelo, de forma a testar várias condições experimentais na preparação de nanocompósitos por polimerização em miniemulsão. Os resultados apontam para a diferente mobilidade das NPs, como resultado de uma maior ou menor interacção com as cadeias de polímero, como principal explicação para as morfologias obtidas.

Relativamente ainda a este ponto, a preparação de nanocompósitos por um método de polimerização diferencial, semelhante ao método de polimerização por emulsão,

permitiu, nalguns casos, obter nanocompósitos com morfologia do tipo núcleo-coroa. Este tipo de polimerização constitui um sistema de mobilidade reduzida das NPs, o qual apresenta, para os nanocompósitos com esta morfologia, uma penetração reduzida do monómero/polímero nos espaços interparticulares.

O estudo das propriedades magnéticas de nanocompósitos de magnetite em matriz polimérica de PMMA, mas com morfologias marcadamente distintas, revela um fenómeno muito interessante: a inclusão de NPs numa estrutura de núcleo-coroa na matriz polimérica, origina um aumento inesperado da magnetização de saturação (M_s), quando comparado com as NPs isoladas ou dispostas na superfície das partículas de polímero.

3.7. Referencias

1. Bawendi, M.G., M.L. Steigerwald, and L.E. Brus, *The Quantum-Mechanics of Larger Semiconductor Clusters (Quantum Dots)*. Annual Review of Physical Chemistry, 1990. **41**: p. 477-496.
2. Weller, H., *Quantized Semiconductor Particles - a Novel State of Matter for Materials Science*. Advanced Materials, 1993. **5**(2): p. 88-95.
3. Alivisatos, A.P., *Perspectives on the physical chemistry of semiconductor nanocrystals*. Journal of Physical Chemistry, 1996. **100**(31): p. 13226-13239.
4. Eychmuller, A., *Structure and photophysics of semiconductor nanocrystals*. Journal of Physical Chemistry B, 2000. **104**(28): p. 6514-6528.
5. Trindade, T., P. O'Brien, and N.L. Pickett, *Nanocrystalline semiconductors: Synthesis, properties, and perspectives*. Chemistry of Materials, 2001. **13**(11): p. 3843-3858.
6. Rao, C.N.R., A. Muller, and A.K. Cheetham, *The Chemistry of Nanomaterials*. 2003, Weinheim: Wiley-VCH.
7. Alivisatos, P., *The use of nanocrystals in biological detection*. Nature Biotechnology, 2004. **22**(1): p. 47-52.
8. Taylor, J.R., M.M. Fang, and S.M. Nie, *Probing specific sequences on single DNA molecules with bioconjugated fluorescent nanoparticles*. Analytical Chemistry, 2000. **72**(9): p. 1979-1986.
9. Green, M., *Semiconductor quantum dots as biological imaging agents*. Angewandte Chemie-International Edition, 2004. **43**(32): p. 4129-4131.
10. Green, M., *Organometallic based strategies for metal nanocrystal synthesis*. Chemical Communications, 2005(24): p. 3002-3011.
11. Bauer, L.A., N.S. Birenbaum, and G.J. Meyer, *Biological applications of high aspect ratio nanoparticles*. Journal of Materials Chemistry, 2004. **14**(4): p. 517-526.
12. Riegler, J., et al., *Visualizing the self-assembly of tubulin with luminescent nanorods*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2003. **3**(5): p. 380-385.
13. Derfus, A.M., W.C.W. Chan, and S.N. Bhatia, *Intracellular delivery of quantum dots for live cell labeling and organelle tracking*. Advanced Materials, 2004. **16**(12): p. 961-+.
14. Pankhurst, Q.A., et al., *Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2009. **42**(22): p. -.
15. Roca, A.G., et al., *Progress in the preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2009. **42**(22): p. -.
16. Berry, C.C., *Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2009. **42**(22): p. -.
17. Wang, S.X., Y. Zhou, and W.T. Sun, *Preparation and characterization of antifouling thermosensitive magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*. Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems, 2009. **29**(4): p. 1196-1200.
18. Park, S.I., et al., *Surface-modified magnetic nanoparticles with lecithin for applications in biomedicine*. Current Applied Physics, 2008. **8**(6): p. 706-709.

19. Pankhurst, Q.A., et al., *Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2003. **36**(13): p. R167-R181.
20. Tartaj, P., et al., *The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2003. **36**(13): p. R182-R197.
21. Berry, C.C. and A.S.G. Curtis, *Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine*. Journal of Physics D-Applied Physics, 2003. **36**(13): p. R198-R206.
22. Gu, H.W., et al., *Biofunctional magnetic nanoparticles for protein separation and pathogen detection*. Chemical Communications, 2006(9): p. 941-949.
23. Mikhaylova, M., et al., *Superparamagnetism of magnetite nanoparticles: Dependence on surface modification*. Langmuir, 2004. **20**(6): p. 2472-2477.
24. Pardoe, H., et al., *Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2001. **225**(1-2): p. 41-46.
25. Gupta, A.K. and M. Gupta, *Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications*. Biomaterials, 2005. **26**(18): p. 3995-4021.
26. Ugelstad, J., et al., *Preparation and Biochemical and Biomedical Applications of New Monosized Polymer Particles*. Polymer International, 1993. **30**(2): p. 157-168.
27. Ugelstad, J., et al., *Monodisperse Magnetic Polymer Particles - New Biochemical and Biomedical Applications*. Blood Purification, 1993. **11**(6): p. 349-369.
28. Furusawa, K., K. Nagashima, and C. Anzai, *Synthetic Process to Control the Total Size and Component Distribution of Multilayer Magnetic Composite-Particles*. Colloid and Polymer Science, 1994. **272**(9): p. 1104-1110.
29. Sauzedde, F., A. Elaissari, and C. Pichot, *Hydrophilic magnetic polymer latexes. 2. Encapsulation of adsorbed iron oxide nanoparticles*. Colloid and Polymer Science, 1999. **277**(11): p. 1041-1050.
30. Sauzedde, F., A. Elaissari, and C. Pichot, *Hydrophilic magnetic polymer latexes. 1. Adsorption of magnetic iron oxide nanoparticles onto various cationic latexes*. Colloid and Polymer Science, 1999. **277**(9): p. 846-855.
31. Caruso, F., et al., *Magnetic core-shell particles: Preparation of magnetite multilayers on polymer latex microspheres*. Advanced Materials, 1999. **11**(11): p. 950-+.
32. Kim, B.S., et al., *Magnetomicelles: Composite nanostructures from magnetic nanoparticles and cross-linked amphiphilic block copolymers*. Nano Letters, 2005. **5**(10): p. 1987-1991.
33. Liu, G.J., H.S. Yang, and J.Y. Zhou, *Preparation of magnetic microspheres from water-in-oil emulsion stabilized by block copolymer dispersant*. Biomacromolecules, 2005. **6**(3): p. 1280-1288.
34. Erdem, B., et al., *Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. I. Dispersion of titanium dioxide particles in organic media using OLOA 370 as stabilizer*. Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry, 2000. **38**(24): p. 4419-4430.
35. Erdem, B., et al., *Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. II. Preparation and characterization of styrene miniemulsion*

- droplets containing *TiO₂* particles. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 2000. **38**(24): p. 4431-4440.
36. Erdem, B., et al., *Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. III. Characterization of encapsulation*. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 2000. **38**(24): p. 4441-4450.
 37. Tiarks, F., K. Landfester, and M. Antonietti, *Silica nanoparticles as surfactants and fillers for latexes made by miniemulsion polymerization*. *Langmuir*, 2001. **17**(19): p. 5775-5780.
 38. Tiarks, F., K. Landfester, and M. Anonietti, *Encapsulation of carbon black by miniemulsion polymerization*. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2001. **202**(1): p. 51-60.
 39. Esteves, A.C.C., et al., *Polymer encapsulation of CdE (E = S, Se) quantum dot ensembles via in-situ radical polymerization in miniemulsion*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2005. **5**(5): p. 766-771.
 40. Peres, M., et al., *A green-emitting CdSe/poly(butyl acrylate) nanocomposite*. *Nanotechnology*, 2005. **16**(9): p. 1969-1973.
 41. Joumaa, N., et al., *Synthesis of quantum dot-tagged submicrometer polystyrene particles by miniemulsion polymerization*. *Langmuir*, 2006. **22**(4): p. 1810-1816.
 42. Fleischhaker, F. and R. Zentel, *Photonic crystals from core-shell colloids with incorporated highly fluorescent quantum dots*. *Chemistry of Materials*, 2005. **17**(6): p. 1346-1351.
 43. Hoffmann, D., et al., *Encapsulation of magnetite in polymer particles via the miniemulsion polymerization process*. *Magnetohydrodynamics* 2001. **37**(3): p. 217-221.
 44. Landfester, K. and L.P. Ramirez, *Encapsulated magnetite particles for biomedical application*. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2003. **15**(15): p. S1345-S1361.
 45. Ramirez, L.P. and K. Landfester, *Magnetic polystyrene nanoparticles with a high magnetite content obtained by miniemulsion processes*. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2003. **204**(1): p. 22-31.
 46. Xu, Z.Z., et al., *Encapsulation of nanosized magnetic iron oxide by polyacrylamide via inverse miniemulsion polymerization*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2004. **277**(1-2): p. 136-143.
 47. Csetneki, I., et al., *Preparation of magnetic polystyrene latex via the miniemulsion polymerization technique*. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2004. **42**(19): p. 4802-4808.
 48. Betancourt-Galindo, R., et al., *Preparation and Characterization of magnetic latexes using Styrene monomer*. *Polymer Bulletin*, 2004. **51**(5): p. 395-402.
 49. Liu, X., et al., *Surface Modification and Characterization of Magnetic Polymer Nanospheres Prepared by Miniemulsion Polymerization*. *Langmuir*, 2004. **20**(23): p. 10278-10282.
 50. Zheng, W., F. Gao, and H. Gu, *Magnetic polymer nanospheres with high and uniform magnetite content*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2005. **288**: p. 403-410.

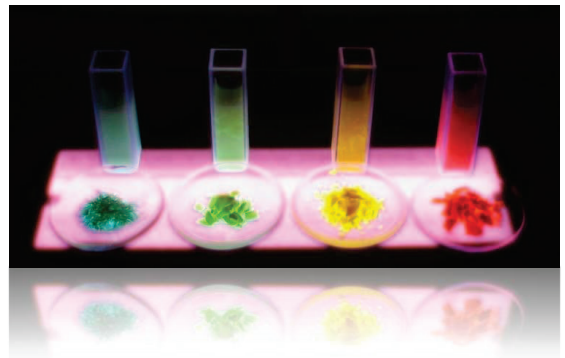
51. Zheng, W., F. Gao, and H. Gu, *Carboxylated magnetic polymer nanolatexes: Preparation, characterization and biomedical applications*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2005. **293**(1): p. 199-205.
52. Yan, F., et al., *Preparation of Fe₃O₄/polystyrene composite particles from monolayer oleic acid modified Fe₃O₄ nanoparticles via miniemulsion polymerization*. Journal of Nanoparticle Research, 2009. **11**: p. 289-296.
53. Xia, A., et al., *Synthesis of magnetic microspheres with controllable structure via polymerization-triggered self-positioning of nanocrystals*. Small, 2007. **3**(10): p. 1811-1817.
54. Sun, S.H., *Recent advances in chemical synthesis, self-assembly, and applications of FePt nanoparticles*. Advanced Materials, 2006. **18**(4): p. 393-403.
55. Hai, N.H., N.M. Dempsey, and D. Givord, *Hard magnetic Fe-Pt alloys prepared by cold-deformation*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2003. **262**(3): p. 353-360.
56. Liu, C., et al., *Oxidation of FePt nanoparticles*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2003. **266**(1-2): p. 96-101.
57. Weller, D. and M.F. Doerner, *Extremely high-density longitudinal magnetic recording media*. Annual Review of Materials Science, 2000. **30**: p. 611-644.
58. Fievet, F., et al., *Homogeneous and Heterogeneous Nucleations in the Polyol Process for the Preparation of Micron and Sub-Micron Size Metal Particles*. Solid State Ionics, 1989. **32-3**: p. 198-205.
59. Fievet, F., J.P. Lagier, and M. Figlarz, *Preparing Monodisperse Metal Powders in Micrometer and Submicrometer Sizes by the Polyol Process*. MRS Bulletin, 1989. **14**: p. 12.
60. Murray, C.B., C.R. Kagan, and M.G. Bawendi, *Synthesis and characterization of monodisperse nanocrystals and close-packed nanocrystal assemblies*. Annual Review of Materials Science, 2000. **30**(1): p. 545-610.
61. Song, H.M., et al., *Chemically ordered FePt₃ nanoparticles synthesized by a bimetallic precursor and their magnetic transitions*. Journal of Materials Chemistry, 2009. **19**(22): p. 3677-3681.
62. Frommen, C., H. Rosner, and D. Fenske, *Wet-chemical synthesis and properties of CoPt and CoPt₃ alloy nanoparticles*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2002. **2**(5): p. 509-515.
63. Chen, M., et al., *Silver nanoparticles capped by oleylamine: Formation, growth, and self-organization*. Langmuir, 2007. **23**(10): p. 5296-5304.
64. Bourgeat-Lami, E., et al., *Nucleation of polystyrene latex particles in the presence of gamma-methacryloxypropyl-trimethoxysilane: Functionalized silica particles*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2006. **6**(2): p. 432-444.
65. Reculosa, S., et al., *Syntheses of raspberrylike silica/polystyrene materials*. Chemistry of Materials, 2002. **14**(5): p. 2354-2359.
66. Rooney, P.W., et al., *Evidence of a Surface-Mediated Magnetically Induced Miscibility Gap in Co-Pt Alloy Thin-Films*. Physical Review Letters, 1995. **75**(9): p. 1843-1846.
67. Wiekhorst, F., et al., *Anisotropic superparamagnetism of monodispersive cobalt-platinum nanocrystals*. Physical Review B, 2003. **67**(22): p. -.

68. Shevchenko, E.V., et al., *Study of nucleation and growth in the organometallic synthesis of magnetic alloy nanocrystals: The role of nucleation rate in size control of CoPt₃ nanocrystals*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(30): p. 9090-9101.
69. Hilgendorff, M., *Bimetallic Ferrofluids*, in *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, H.S. Nalwa, Editor. 2004, American Scientific Publishers. p. 213-233.
70. Bradley, J.S., et al., *Syntheses and Characterizations: 3.2 Synthesis of Metal Nanoparticles*. Nanoparticles. 2005: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 185-238.
71. Held, G.A., et al., *Competing interactions in dispersions of superparamagnetic nanoparticles*. Physical Review B, 2001. **64**(1): p. 012408.
72. Buijs, J., et al., *Adsorption of Monoclonal Iggs and Their F(Ab')(2) Fragments onto Polymeric Surfaces*. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 1995. **5**(1-2): p. 11-23.
73. Lee, K.B., et al., *Protein nanoarrays generated by dip-pen nanolithography*. Science, 2002. **295**(5560): p. 1702-1705.
74. Krishnan, K.M., *Biomedical Nanomagnetism: A Spin Through Possibilities in Imaging, Diagnostics, and Therapy*. Ieee Transactions on Magnetics, 2010. **46**(7): p. 2523-2558.
75. LaConte, L., N. Nitin, and G. Bao, *Magnetic nanoparticle probes*. Materials Today, 2005. **8**(5, Supplement 1): p. 32-38.
76. Jeong, U., et al., *Superparamagnetic colloids: Controlled synthesis and niche applications*. Advanced Materials, 2007. **19**(1): p. 33-60.
77. Rockenberger, J., E.C. Scher, and A.P. Alivisatos, *A new nonhydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal oxides*. Journal of the American Chemical Society, 1999. **121**(49): p. 11595-11596.
78. Lin, J.Y., D.J. Yao, and F.G. Tseng, *Functional antibody-antigen reaction on the surface of iron oxide nanoparticles*. 2006 1st IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, Vols 1-3, 2006: p. 1276-1279.
79. Xu, H., et al., *Development of high magnetization Fe₃O₄/polystyrene/silica nanospheres via combined miniemulsion/emulsion polymerization*. Journal of the American Chemical Society, 2006. **128**(49): p. 15582-15583.
80. Cornell, R.M. and U. Schwertmann, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurences and Uses*. 2003, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
81. De Palma, R., et al., *Silane ligand exchange to make hydrophobic superparamagnetic nanoparticles water-dispersible*. Chemistry of Materials, 2007. **19**(7): p. 1821-1831.
82. Roonasi, P. and A. Holmgren, *A Fourier transform infrared (FTIR) and thermogravimetric analysis (TGA) study of oleate adsorbed on magnetite nanoparticle surface*. Applied Surface Science, 2009. **255**(11): p. 5891-5895.
83. Zhang, Q.Y., et al., *Encapsulation of magnetic particles via miniemulsion polymerization of styrene. - II. - Effect of some parameters on the polymerization of styrene*. Journal of Applied Polymer Science, 2007. **105**(6): p. 3525-3530.

84. Neuberger, T., et al., *Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2005. **293**(1): p. 483-496.
85. Rhodes, R., et al., *Aggregation of zinc oxide nanoparticles: From non-aqueous dispersions to composites used as photoactive layers in hybrid solar cells*. Journal of Colloid and Interface Science, 2010. **344**(2): p. 261-271.
86. Bourgeat-Lami, E., *Organic/Inorganic Nanocomposite Colloids*, in *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, H.S. Nalwa, Editor. 2004, American Scientific Publishers. p. 305-332.
87. Dormann, J.L., D. Fiorani, and E. Tronc, *Magnetic Relaxation in Fine-Particle Systems*. Advances in Chemical Physics, ed. I. Prigogine and S.A. Rice. Vol. 98. 1997: John Wiley & Sons, Inc. 283-494.
88. Dormann, J.L., D. Fiorani, and E. Tronc, *On the models for interparticle interactions in nanoparticle assemblies: comparison with experimental results*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 1999. **202**(1): p. 251-267.
89. Goya, G.F., et al., *Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles*. Journal of Applied Physics, 2003. **94**(5): p. 3520-3528.
90. Millan, A., et al., *Surface effects in maghemite nanoparticles*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2007. **312**(1): p. L5-L9.
91. Batlle, X., et al., *Surfactant effects in magnetite nanoparticles of controlled size*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2007. **316**(2): p. E756-E759.
92. Elmore, W.C., *The magnetization of ferromagnetic colloids*. Physical Review, 1938. **54**(12): p. 1092-1095.
93. Langevin, P., *Magnetism and theory of electrons*. Annales De Chimie Et De Physique, 1905. **5**: p. 70-127.

Capítulo 4

Nanocompósitos de QDs - Polímero



Índice

4.1. Introdução	181
4.2. Resultados e discussão	183
Síntese e modificação superficial de QDs de CdSe	183
Encapsulamento de NPs luminescentes em matrizes poliméricas.....	191
Dependência das propriedades de PL com a temperatura.....	204
Aplicação em sensores baseados em fibras ópticas	209
4.3. Conclusões	212
4.4. Referências	214

Existe um crescente interesse na preparação de materiais compósitos inorgânicos - orgânicos multifuncionais que apresentem propriedades ópticas melhoradas. Estes materiais híbridos podem resultar da associação de nanoestruturas inorgânicas em matrizes orgânicas, como por exemplo poliméricas. Como resultado das suas propriedades ópticas singulares, os pontos quânticos ou “quantum dots” (QDs) têm sido extensivamente investigados como materiais inorgânicos para aplicações em dispositivos ópticos. A incorporação de QDs em matrizes poliméricas é de particular interesse, nomeadamente devido ao comportamento óptico do nanocompósito final parecer estar dependente do tipo de polímero utilizado. Adicionalmente, o encapsulamento de QDs em matrizes poliméricas tem um duplo efeito: o polímero actua como uma capa protectora contra a degradação oxidativa dos QDs e ainda fornece uma interface excelente para a funcionalização, originando materiais com potenciais aplicações biológicas em diagnóstico in vitro, funcionando como sondas biológicas luminescentes. Neste capítulo é discutida a preparação e propriedades ópticas de QDs de CdSe/ZnS, assim como dos seus materiais nanocompósitos CdSe/ZnS-PBA, em matrizes poliméricas de poli(acrilato de butilo) (PBA), nas suas formas éster ramificada, tert e linear (n). Os QDs de CdSe/ZnS revestidos com moléculas orgânicas foram usados como materiais de partida para preparar nanocompósitos QDs-PBA por um processo de polimerização in situ em miniemulsão, sem ser necessária a adição de outros estabilizantes. As propriedades ópticas dos nanocompósitos foram estudadas sistematicamente por medidas de fotoluminescência (PL), especialmente em termos de parâmetros como o tamanho dos QDs, tipo de polímero e dependência com a temperatura. A aplicação destes nanocompósitos como sensores de temperatura suportados em fibras ópticas é também aqui apresentada.

4.1. Introdução

Existe um crescente interesse na preparação de materiais compósitos inorgânicos - orgânicos multifuncionais que apresentem propriedades ópticas melhoradas. Estes materiais híbridos podem resultar da associação de nanoestruturas inorgânicas em matrizes orgânicas, como por exemplo poliméricas.

Como resultado das suas propriedades ópticas singulares, os pontos quânticos ou “quantum dots” (QDs) têm sido extensivamente investigados como materiais inorgânicos para aplicações em dispositivos ópticos. Entre as aplicações potenciais de QDs, podemos encontrar díodos emissores de luz (LEDs), lasers, células fotovoltaicas, marcadores luminescentes biomédicos e transístores de efeito de campo. De facto, os QDs possuem um conjunto de características vantajosas comparativamente a outros materiais: bandas de emissão estreitas; uma banda de absorção bastante alargada, o que permite a

excitação numa gama larga de frequências; rendimentos quânticos elevados; excelente fotoestabilidade e a possibilidade de ajustar as propriedades ópticas manipulando o tamanho de partícula e composição. No entanto, os QDs apresentam algumas limitações como por exemplo, a natureza intermitente do fenómeno de fotoluminescência em QDs (*blinking*) e a citotoxicidade associada à utilização destes materiais [1]

A incorporação de QDs em matrizes poliméricas tem sido apresentada como uma via interessante com benefícios demonstrados em termos de estabilidade e processamento dos materiais híbridos [2-7]. Têm sido desenvolvidos vários métodos de modificação superficial de QDs (ver Introdução desta tese) de forma a minimizar a degradação oxidativa e os tornar compatíveis com diversos meios [8-10]. De particular interesse são os métodos em que o componente orgânico é gerado *in situ* por via química, mantendo a integridade química do componente inorgânico. Outra vantagem dos métodos de preparação *in situ* é a homogeneidade microestrutural dos materiais, com consequências relevantes em termos de desempenho, nomeadamente em dispositivos ópticos e sensores. Recorrendo a esta estratégia, diversos tipos de matrizes têm sido testados, como por exemplo, CdS ou CdSe em PBA [6, 11], CdSe/ZnS em PS [12], CdSe/ZnS em PS/PMMA [13] e CdSe ou CdSe/ZnS em diureasilos [14]. A incorporação de QDs em matrizes poliméricas é também de particular interesse, nomeadamente devido ao comportamento óptico do nanocompósito final poder estar dependente do tipo de polímero utilizado. O comportamento óptico dos nanocompósitos é variado e parece depender não só dos QDs utilizados (núcleo ou núcleo/coroa) mas também da matriz polimérica. O encapsulamento de QDs em matrizes poliméricas tem um duplo efeito: além de actuar como uma capa protectora, o polímero ainda fornece uma interface excelente para a funcionalização, originando materiais com potenciais aplicações biológicas em diagnóstico *in vitro*, como sondas luminescentes.

Neste capítulo é discutida a preparação e propriedades ópticas de QDs de CdSe/ZnS, assim como dos seus materiais híbridos nanocompósitos CdSe/ZnS-PBA, em matrizes poliméricas de poli(acrilato de butilo) (PBA), nas suas formas éster ramificada, *tert* e linear *n*. Os QDs de CdSe/ZnS revestidos com moléculas orgânicas foram usados como

materiais de partida para preparar nanocompósitos QDs-PBA por um processo de polimerização *in situ* em miniemulsão, sem ser necessária a adição de outros estabilizantes. As propriedades ópticas dos NCps foram estudadas sistematicamente por medidas de fotoluminescência (PL), especialmente em termos de parâmetros como o tamanho dos QDs, tipo de polímero e dependência com a temperatura. A aplicação destes nanocompósitos como sensores de temperatura suportados em fibras ópticas é também aqui apresentada.

4.2. Resultados e discussão

Síntese e modificação superficial de QDs de CdSe

As NPs de CdSe foram preparadas utilizando um procedimento que é uma adaptação do método originalmente desenvolvido por Peng e colaboradores [15, 16]. As NPs foram obtidas por injeção de uma solução de selénio em trioctilfosfina (TOP) a uma solução de um complexo de Cádmio (II), estereato de cádmio ($\text{Cd}(\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O}_2)_2$), dissolvido num solvente de ponto de ebulição elevado, neste caso oleilamina (OAm). O ajuste adequado dos parâmetros experimentais, temperatura, concentração e tempo de reacção, permite um controle apertado das propriedades morfológicas das NPs. Neste trabalho, foram obtidas NPs de QDs de CdSe com diferentes dimensões, por injeção da solução de TOP-Se a diferentes temperaturas (tipicamente na gama de 100 a 180° C), como referenciado na Tabela 4.1.

A formação dos QDs num meio reaccional que funciona simultaneamente como solvente e tensioactivo (OAm) permite a obtenção de QDs de CdSe cuja superfície se encontra passivada com moléculas de OAm, o que promove a obtenção de QDs com uma distribuição apertada de tamanhos e previne a agregação das NPs. Como discutido na introdução desta tese, a passivação da superfície de QDs com moléculas orgânicas não é suficiente para eliminar os estados de superfície e torna-se necessário revestir as NPs de QDs de CdSe com um material semiconductor de maior hiato de energia, como por exemplo ZnS, obtendo-se assim QDs com excelentes propriedades de PL [17]. Aqui apresenta-se uma nova estratégia para preparar estes QDs de CdSe/ZnS, com uma

estrutura tipicamente de núcleo-coroa, que envolve a termólise de um complexo de $[\text{Zn}(\text{en})_3][(\text{dtc})_2]$ (en = etilenodiamina, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$; dtc = dietilditiocarbamato, $\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$) em OAm, na presença dos QDs de CdSe sintetizados previamente, nas condições descritas na Tabela 4.1 [14]. Resumidamente, o revestimento das NPs de CdSe com uma camada de ZnS foi conseguido pela decomposição térmica ($\sim 100^\circ\text{C}$) de um precursor unimolecular que contém Zinco e Enxofre. O precursor escolhido, $\text{Zn}(\text{en})_3(\text{dtc})_2$ foi obtido por dissolução de $\text{Zn}(\text{dtc})_2$ numa solução aquosa de etilenodiamina seguido de cristalização. Relativamente a outras estratégias [17, 18], esta abordagem permite evitar não só a utilização de compostos pirofóricos (como por exemplo o $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$), mas também uma diminuição da temperatura de reacção em relação à que seria necessária utilizar se o precursor utilizado fosse um dialquilditiocarbamato de zinco (II) [19]. Por outro lado, foi demonstrado que as alquilaminas têm o efeito de melhorar as propriedades luminescentes das NPs semicondutoras passivadas organicamente [8].

Está bem estabelecido que os espectros representados na Figura 4.1 são característicos de QDs de CdSe apresentando efeitos de confinamento quântico de dimensão. A magnitude do desvio observado para maiores valores de energia do máximo do primeiro pico excitónico, relativamente ao valor do hiato óptico do CdSe macrocristalino ($E_g = 1.714\text{ eV}$, à temperatura ambiente) depende da distribuição de tamanhos de partícula [20].

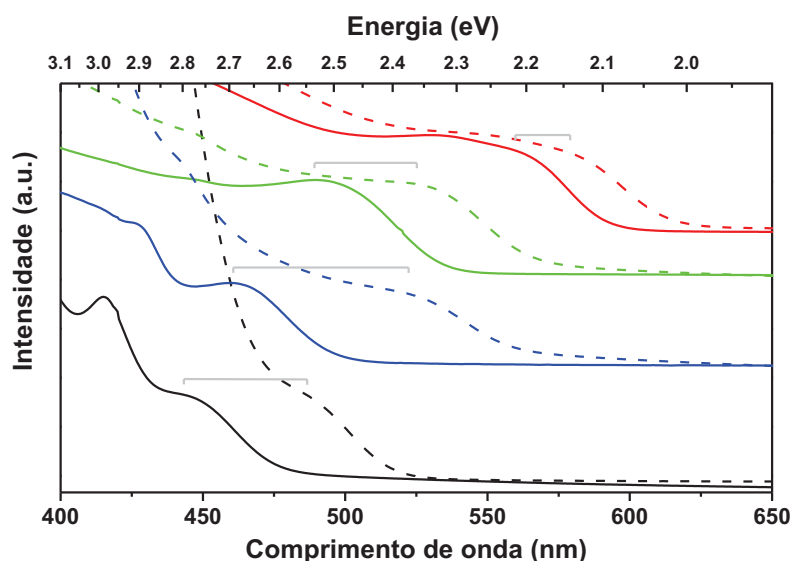


Figura 4.1. Espectros ópticos de absorção de soluções de QDs com diferentes tamanhos médios, linha sólida: CdSe (1.89) (linha preta), CdSe (2.02) (linha azul), CdSe (2.25) (linha verde) e CdSe (3.17) (linha vermelha) e respectivos QDs revestidos com uma camada de ZnS, linha tracejada: CdSe/ZnS (1.89) (linha preta), CdSe/ZnS (2.02) (linha azul), CdSe/ZnS (2.25) (linha verde) e CdSe/ZnS (3.17) (linha vermelha). As curvas foram deslocadas no eixo dos yy por questão de clareza.

O tamanho médio das NPs de CdSe pode ser estimado utilizando a relação empírica obtida por Peng e colaboradores [21], que determinaram os coeficientes de extinção de nanocristais de CdSe, no primeiro pico excitónico em função do tamanho (ver capítulo 6, Experimental). Consideram-se assim os valores de comprimento de onda dos picos excitónicos dos espectros óptico para as NPs de CdSe (Figura 4.1). Os valores determinados para o tamanho dos QDs (núcleo de CdSe) estão representados na Tabela 4.1.

A quantidade de precursor $\text{Zn(en)}_3(\text{dte})_2$ necessária para fazer crescer uma monocamada de ZnS, para cada amostra de CdSe, foi estimada considerando o tamanho médio dos núcleos de CdSe determinados a partir dos espectros de absorção (Tabela 4.1) e a variação de volume do núcleo para uma estrutura núcleo/coroa considerando uma morfologia esférica, tendo em conta os parâmetros de rede do ZnS e CdSe macrocristalinos [22].

Tabela 4.1. Condições experimentais e nomenclatura das NPs preparadas: Temperatura de injeção, valor do comprimento de onda do máximo da primeira banda de absorção e diâmetro dos núcleos de CdSe determinados pela relação empírica de Peng e colaboradores [21].

Designação do núcleo	T (°C)	λ_{max} (nm)	D (nm)	Designação do material núcleo/coróia
CdSe (1.89)	100	442	1.89	QDs (1.89)
CdSe (2.02)	120	460	2.02	QDs (2.02)
CdSe (2.25)	150	489	2.25	QDs (2.25)
CdSe (3.17)	180	556	3.17	QDs (3.17)

Em partículas núcleo/coróia, o crescimento de uma camada de um material semiconductor de *E_g* largo, leva á modificação das propriedades ópticas do material semiconductor que constitui o núcleo, com *E_g* estreito. Tipicamente, nestes casos observa-se nos espectros de UV-Visível um desvio para o vermelho (para maiores comprimentos de onda) das bandas de absorção [19]. Este desvio para o vermelho é explicado pela relaxação do confinamento quântico resultante do crescimento da camada de revestimento (coróia) [23], podendo existir uma mistura de fases na interface núcleo/coróia [23, 24], do que resulta uma fuga parcial de excitações para a coróia de ZnS [17].

Por exemplo, no caso dos QDs cujo núcleo de CdSe apresenta as dimensões de 2.25 nm; a caracterização óptica das amostras (Figura 4.1), revela um desvio para maiores comprimentos de onda do máximo de absorção da amostra de CdSe/ZnS comparativamente à amostra inicial de CdSe: $\lambda(\text{CdSe})_{\text{max}} = 489.5 \text{ nm}$ e $\lambda(\text{CdSe/ZnS})_{\text{max}} = 525.0 \text{ nm}$. O desvio relativamente largo observado após o revestimento com ZnS ($\Delta\lambda = 35.5 \text{ nm}$, 171 meV) poderá estar relacionado com o facto de a reacção ter sido efectuada num só passo, o que parece favorecer a formação de uma interface mista [19, 24]. Este desvio pode ser reduzido drasticamente quando a distribuição de tamanhos das NPs de CdSe é seleccionada previamente por um método de precipitação selectiva [25].

Na Figura 4.2 estão representadas as imagens de TEM das NPs de CdSe e de CdSe/ZnS, designadas neste trabalho como CdSe(2.25) e QDs(2.25), respectivamente. Enquanto as NPs de CdSe se apresentam dispersas, para as NPs revestidas observa-se um certo grau de aglomeração, acompanhado por um crescimento do tamanho de partícula. Para a amostra de NPs de CdSe preparadas a uma temperatura de 150°C, o tamanho médio de partícula obtido utilizando a relação empírica de Peng e colaboradores foi de 2.25 nm. Da análise das imagens de TEM das NPs de CdSe e de CdSe/ZnS (Figura 4.2), podemos construir os histogramas das respectivas distribuições de tamanhos (Figura 4.3), tendo sido obtido um tamanho médio de 2.4 ± 0.5 nm, para as NPs de CdSe. De salientar a concordância de valores para as dimensões médias das partículas determinadas pela relação de Peng e por observação directa por microscopia electrónica. Após o revestimento com uma fase de ZnS, a análise das imagens de TEM indica que as NPs de CdSe/ZnS têm um tamanho médio de 2.9 ± 0.7 nm, revelando um pequeno acréscimo do tamanho de partícula relativamente às NPs de CdSe iniciais. Este aumento médio das dimensões de partícula é indicativo da formação de uma coroa de ZnS. Estas partículas apresentam uma boa cristalinidade, como se pode confirmar pela imagem HRTEM (Figura 4.2b em detalhe).

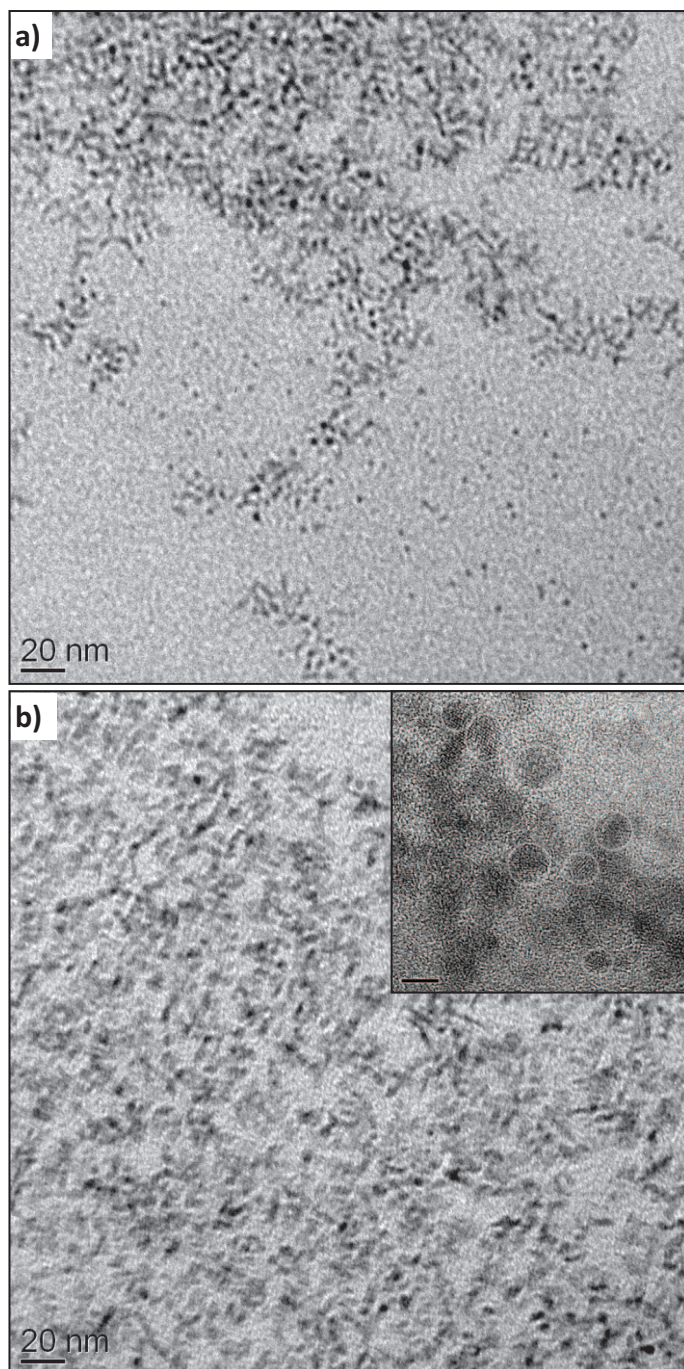


Figura 4.2. Imagens de microscopia (TEM) das NPs: a) de CdSe (CdSe (2.25)) e de b) CdSe/ZnS (QDs (2.25)). Em detalhe, imagem de HRTEM de QDs (2.25).

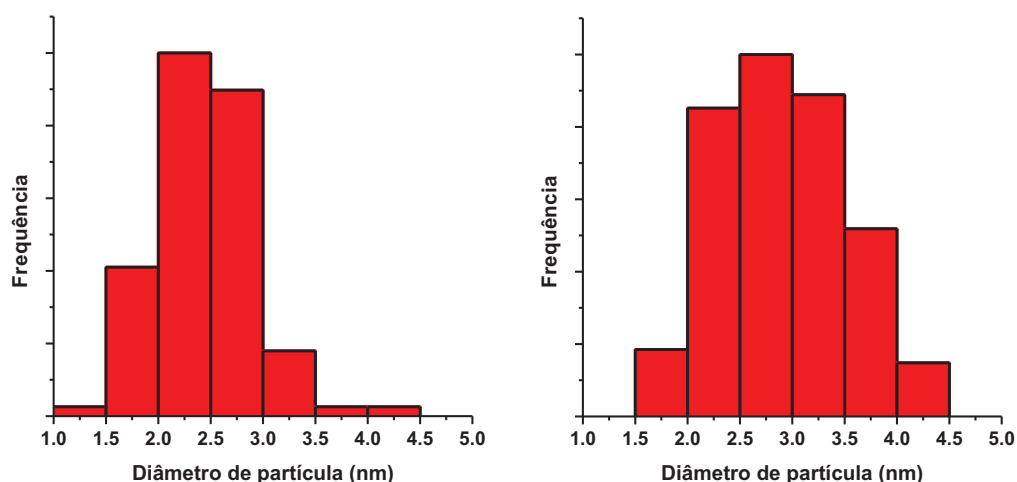


Figura 4.3. Histograma da distribuição de tamanhos de NPs de CdSe (esquerda) e de CdSe/ZnS (direita) obtidas pela análise das imagens de TEM.

Para comprovar a qualidade da camada do revestimento inorgânico das NPs, isto é, para verificar se as NPs de CdSe se encontram revestidas com uma camada de ZnS, realizaram-se análises à composição química das suas superfícies por Espectroscopia de Fotoelectrões de Raios X (XPS), usando NPs de CdSe e de CdSe/ZnS expostas à oxidação por contacto com o ar atmosférico, e por comparação com NPs que foram conservadas sob atmosfera de N_2 . Acompanhou-se em particular a área correspondente ao elemento selénio, que é susceptível à oxidação, formando-se SeO_2 . Tal como está representado na Figura 4.4, as NPs de CdSe expostas ao ar sofrem oxidação significativa confirmada pelo aumento do pico relativo ao SeO_2 no espectro de XPS [26]. Para as NPs de CdSe que foram revestidas com ZnS (CdSe/ZnS), os espectros das amostras quer expostas ao ar, quer as que foram preservadas sob atmosfera de N_2 , não apresentam um aumento significativo do pico relativo ao SeO_2 , o que confirma que as NPs de CdSe encontram-se revestidas com uma fase protectora contra a degradação oxidativa, neste caso ZnS. Por outro lado, a análise das áreas correspondentes aos elementos Zn e S mostram inequivocamente o aparecimento dos sinais de XPS relativos aos elementos Zn e S, o que indica a presença de uma fase de ZnS, no caso da amostra de CdSe/ZnS (Figura 4.5c e d).

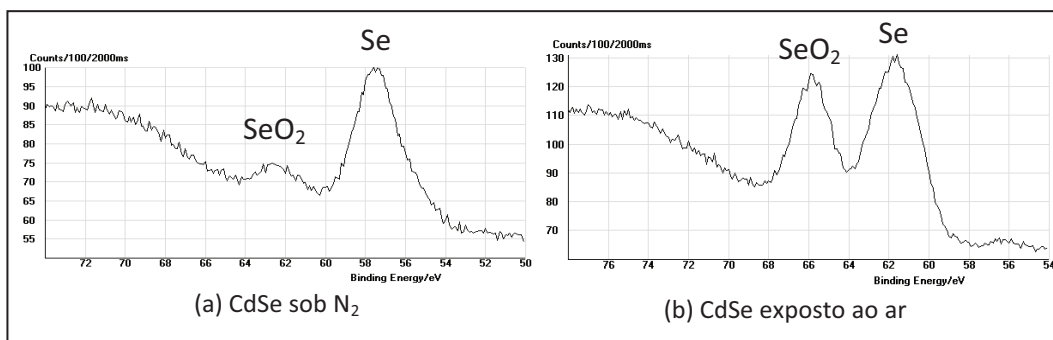


Figura 4.4. Análise superficial por XPS da região relativa ao elemento Se (3d) de nanopartículas de CdSe (a) guardadas sob atmosfera de azoto e (b) expostas ao ar.

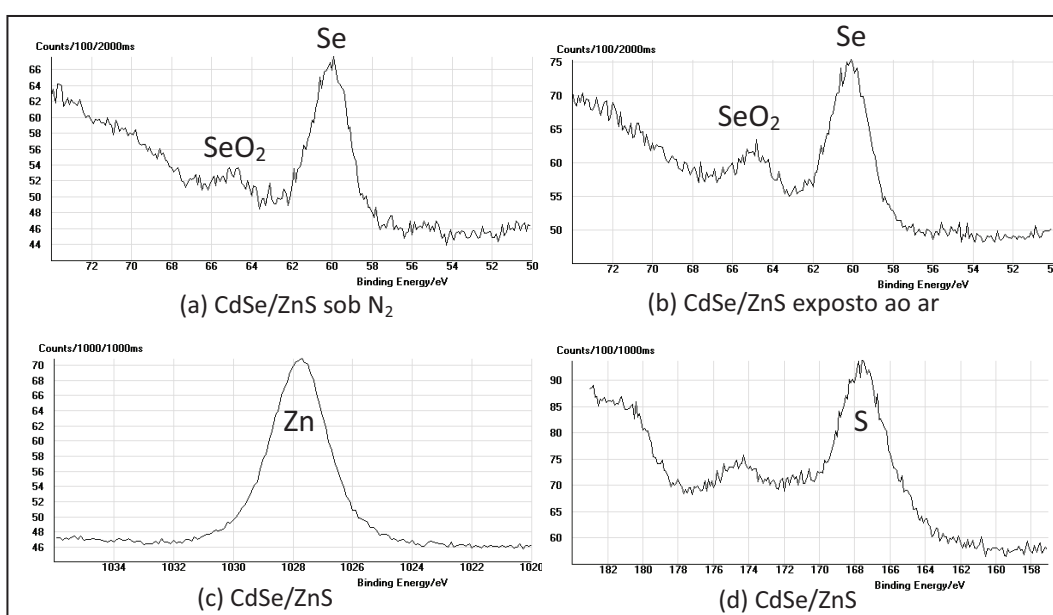


Figura 4.5. Análise superficial por XPS, (a e b) da região relativa ao elemento Se (3d) de nanopartículas de CdSe/ZnS (a) guardadas sob atmosfera de azoto e (b) expostas ao ar; (c) região relativa ao elemento Zn (2p_{3/2}) e (d) região relativa ao elemento S (2p).

As amostras de NPs de CdSe e de CdSe/ZnS foram também caracterizadas por DRX (Figura 4.6) tendo sido confirmada a presença da fase *wurtzite* para a amostra de CdSe. Em relação à amostra de CdSe/ZnS o difractograma mostra picos largos associados a uma fase nanocristalina de CdSe. No entanto, estes picos de difracção encontram-se ligeiramente desviados para maiores valores de 2θ em relação aos observados para picos da amostra das NPs de CdSe originais. Este facto é evidente para a difracção, na amostra de CdSe, a $2\theta \approx 25^\circ$. O desvio verificado para maiores ângulos 2θ na amostra de CdSe/ZnS deverá ser devido a convolução das reflexões (001), (002) e (101) da fase

cristalina hexagonal do CdSe e já havia sido descrito em estudos de raios-X realizados em amostras de CdSe revestidas com uma capa de ZnS [17].

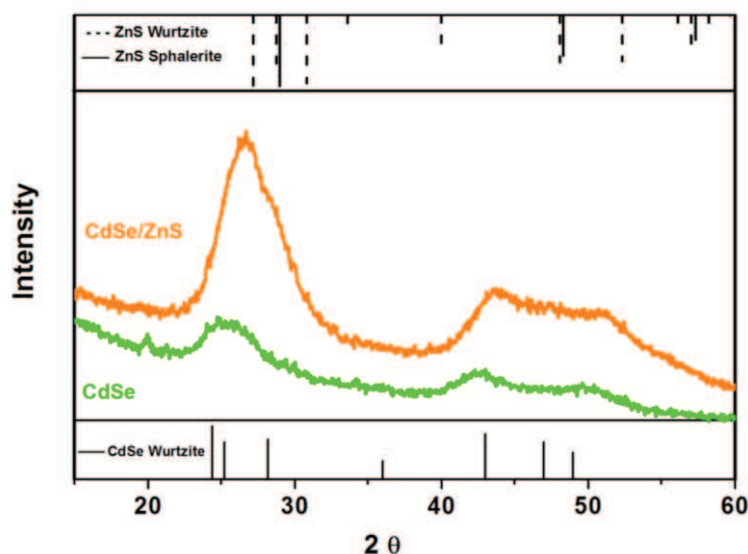


Figura 4.6. Difractogramas de raios-X de pós de QDs de CdSe e de CdSe/ZnS. Representam-se ainda, para comparação, as difracções associadas à fase cúbica de ZnS (esfalerite), à fase hexagonal de ZnS (wurtzite) e à fase hexagonal do CdSe (wurtzite).

Os QDs de CdSe/ZnS passivados com moléculas orgânicas (TOP, OAm) foram utilizados como materiais de partida para a preparação de nanocompósitos (QDs-PBA) por polimerização *in situ* de acrilato de butilo em miniemulsão.

Encapsulamento de NPs luminescentes em matrizes poliméricas.

As NPs de CdSe/ZnS acima descritas, por possuírem moléculas de uma alquilamina de cadeia longa (oleilamina) na sua superfície, são hidrofóbicas e podem ser facilmente dispersas no monómero sem adição de outros agentes estabilizantes. Este facto permite o encapsulamento das NPs em látexes poliméricos por um processo de polimerização *in situ* em miniemulsão, semelhante aquele que foi descrito para as NPs metálicas e magnéticas, reportadas nos capítulos anteriores.

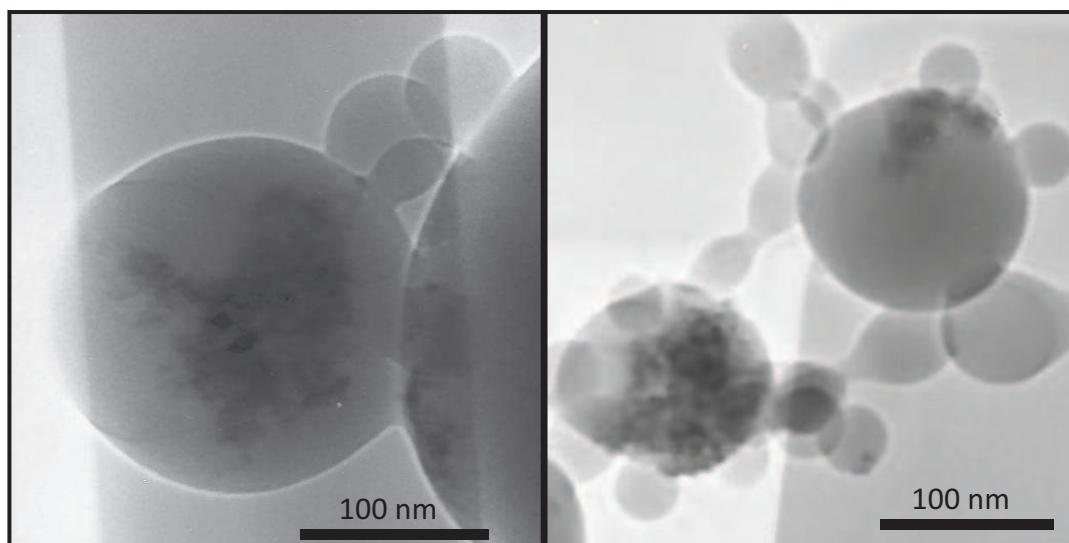


Figura 4.7. Imagens de TEM dos NCs: à esquerda, QDs (2.25)-PtBA e à direita QDs (3.17)-PtBA.

As imagens de TEM (Figura 4.7) dos NCps de QDs-PtBA obtidos por polimerização *in situ* em miniemulsão, revelam a presença de QDs na periferia das esferas do látex. A química superficial das NPs desempenha um papel muito importante nas propriedades dos NCps finais, como foi extensivamente demonstrado no decorrer desta tese. É sabido que para evitar a segregação de fases durante o processo de polimerização, o encapsulamento das NPs inorgânicas envolve geralmente um processo de funcionalização química da superfície das NPs. De notar que nesta estratégia não é previsível a formação de uma ligação química forte entre as moléculas dos agentes passivantes (OAm) e as cadeias poliméricas, obtendo-se um sistema com relativa mobilidade. A Figura 4.7 não nos permite concluir inequivocamente que os QDs se encontram encapsulados na matriz polimérica, podendo estar as NPs situadas numa posição superficial. Ainda a este respeito, a distribuição de QDs na matriz polimérica está longe de ser homogénea por este processo de polimerização. De facto, as condições experimentais necessitam ser optimizadas de forma a limitar a migração dos QDs para a superfície das partículas poliméricas [12]. Esteves e colaboradores demonstraram o encapsulamento efectivo de NPs de CdS e CdSe em PS por esta técnica. Os QDs foram obtidos por termólise dos precursores unimoleculares correspondentes, em TOPO, e posteriormente encapsulados por polimerização de PS em miniemulsão [6]. No entanto, não é de desprezar a migração das NPs para a interface do NCp, devido ao estabelecimento de interacções favoráveis entre os agentes estabilizantes e o tensioactivo, de forma semelhante ao que tem sido

reportado para o caso de outros NCs de QDs em polímeros [12, 13]. Para os NCs de QDs na matriz de PnBA não foi possível identificar a presença do polímero nas imagens de TEM devido a maior sensibilidade desta matriz ao efeito do feixe electrónico, pois este apresenta uma T_g de -54°C [27].

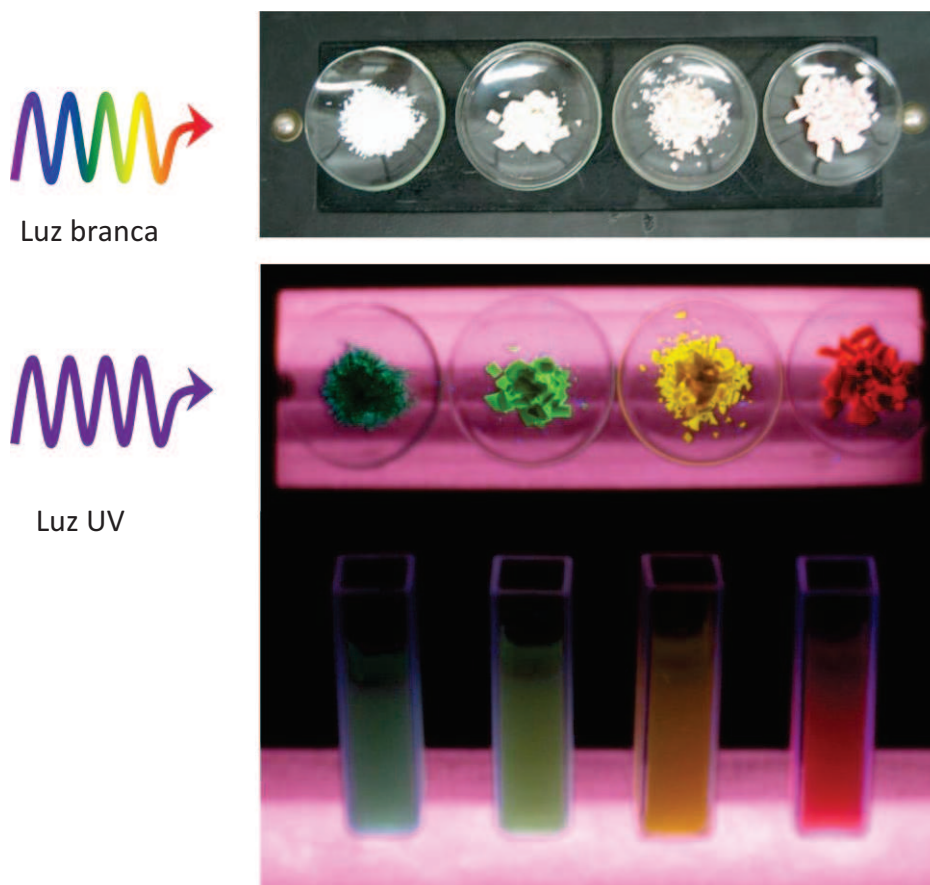


Figura 4.8. Os nanocompósitos de QDs-Polímero apresentam cores intensas quando expostos a luz UV, quer na forma de pó, quer na forma de suspensão aquosa. Da esquerda para a direita: QDs (1.89) PtBA; QDs (2.02) PtBA; QDs (2.25) PtBA e QDs (3.17) PtBA.

Os resultados preliminares revelam a formação de NCps de QDs-poliméricos estáveis em suspensão aquosa e que apresentam propriedades de PL interessantes, quer em suspensão quer em sólido. Apesar da quantidade reduzida de QDs presente nos NCs (entre 400 e 500 ppm (0.04-0.05% m/m), determinada por ICP de Cd), estes mostram cores brilhantes sob radiação UV. As diferentes cores de emissão dos látexes são devido aos efeitos quânticos de dimensão resultantes da incorporação de QDs de diferentes tamanhos (Figura 4.8).

Dos NCs QDs-poliméricos preparados realizou-se um estudo mais aprofundado das propriedades ópticas de alguns materiais seleccionados. Nesse sentido foram seleccionadas duas distribuições de tamanhos de NPs: QDs (2.25) e QDs (3.17) e respectivos NCs poliméricos obtidos por um processo de polimerização *in situ* por miniemulsão. Para o caso dos QDs (2.25) o efeito do processamento do material compósito (por polimerização *in situ* ou por mistura física dos componentes) e da matriz polimérica (utilização do isómero *tert*, PtBA ou *n*, PnBA do monómero de acrilato de butilo) nas propriedades ópticas foi ainda avaliada. Na Figura 4.9 estão representados os espectros de absorção e de emissão dos QDs e respectivos NCs.

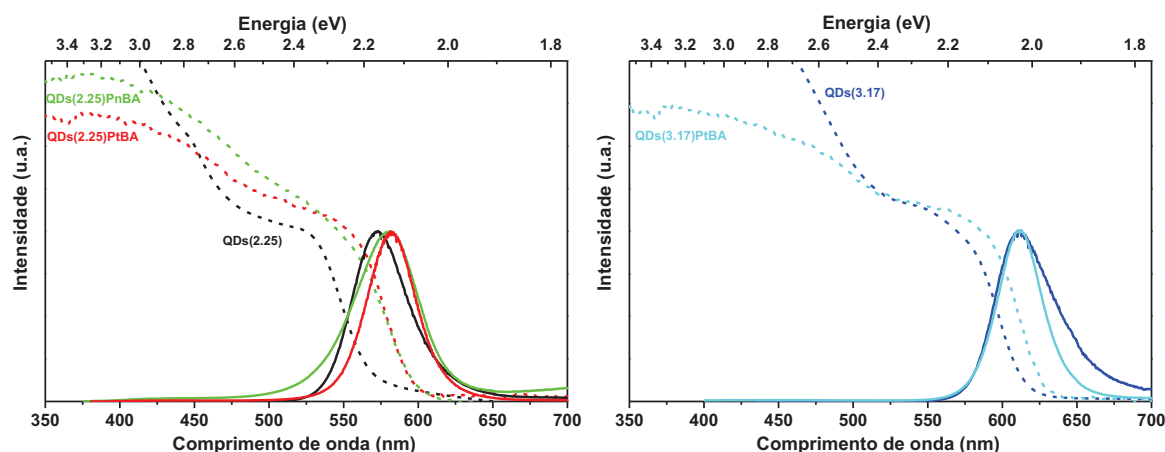


Figura 4.9. Espectros ópticos de absorção de soluções de QDs e dos NCs correspondentes e respectivos espectros de emissão: à esquerda, QDs(2.25), QDs(2.25)-PtBA e QDs(2.25)-PnBA; à direita, QDs(3.17) e QDs(3.17)-PtBA.

Os espectros ópticos de absorção dos materiais compósitos apresentam um desvio do máximo da banda de absorção correspondente à primeira transição excitónica, para menores valores de energia, comparativamente aos espectros obtidos para os QDs isolados. Relativamente ao espectro de emissão dos QDs (2.25), observa-se um desvio da posição do máximo do pico de emissão de 2.36 eV para menores valores de energia, 2.26 eV ou 2.24 eV, para os NCs de QDs (2.25)-PnBA e QDs (2.25)-PtBA, respectivamente. O mesmo não se verifica para os picos de emissão dos QDs (3.17), cuja posição do máximo (2.03 eV) mantêm-se após encapsulamento na matriz de PtBA. Nas Figuras 4.10 e 4.11 estão representados os espectros de emissão (PL) e de excitação (PLE) das soluções de QDs (em tolueno) para os tamanhos estudados: QDs (2.25) e QDs (3.17),

respectivamente. Os espectros de PL dos QDs isolados são ligeiramente assimétricos, apresentando geralmente uma cauda que se estende para a região de maiores comprimentos de onda, o que poderá estar relacionado com a existência de uma distribuição bimodal de tamanhos.

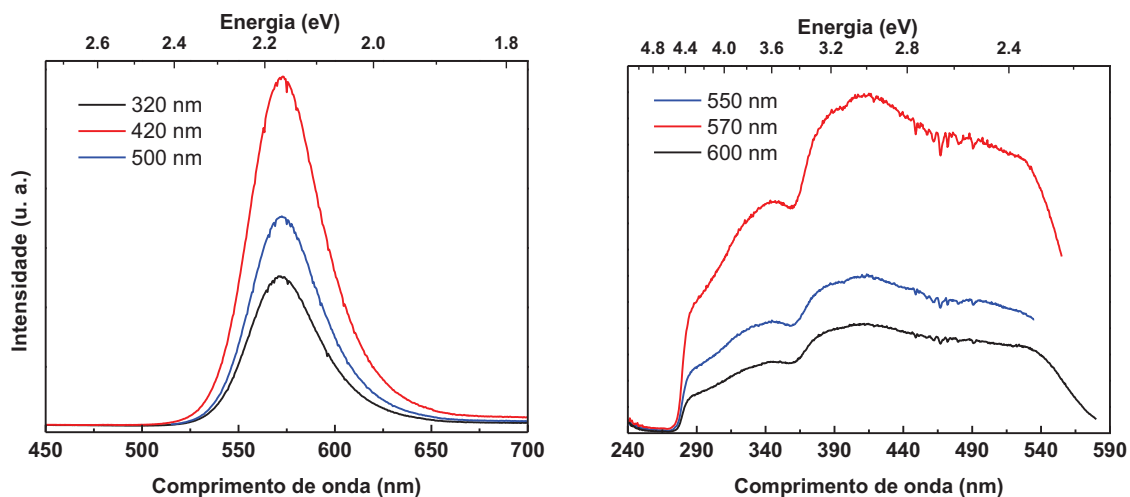


Figura 4.10. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos QDs (2.25) à temperatura ambiente.

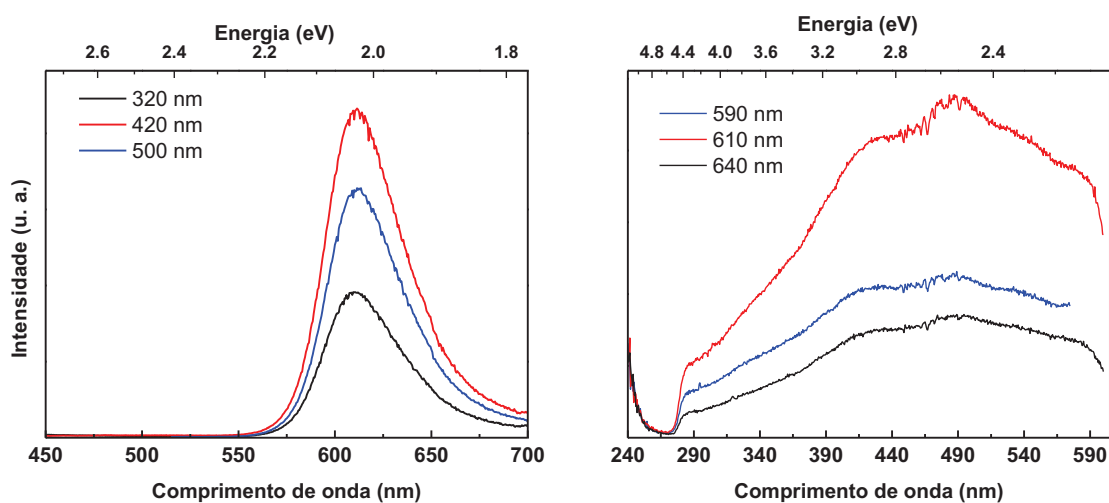


Figura 4.11. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos QDs (3.17) à temperatura ambiente.

O processo de emissão é dominado pela recombinação excitônica, pois a excitação a diferentes comprimentos de onda parece contribuir invariavelmente para o mesmo pico de emissão, centrado no comprimento de onda da transição para o estado de menor

energia (estado fundamental) que é dependente do tamanho médio da população de QDs considerada.

Os espectros de excitação permitem obter informações suplementares sobre a forma como ocorre o processo de emissão. Estes espectros são obtidos monitorizando a absorção de energia pelo sistema que contribui para o processo de emissão, fixando a janela de detecção ao comprimento de onda pretendido. Os espectros de PLE são vantajosos porque são sensíveis a pequenas fracções de luz absorvida pelos QDs, permitindo a detecção de sinais fracos que no caso dos espectros de absorção óptica (Figura 4.9) poderiam estar sobrepostos por uma linha de base acentuada [28]. Geralmente estes espectros reproduzem o espectro óptico de absorção dos materiais, desde que as transições internas contribuam para o processo de excitação do nível fundamental que corresponde neste caso ao hiato óptico (que é o processo que está a ser monitorizado). Este é o caso dos espectros das soluções de QDs em que se observa uma razoável correspondência entre os espectros ópticos de absorção (Figura 4.9) e os espectros de PLE (Figuras 4.10 e 4.11). O processo de emissão dos QDs é dominado pelas contribuições da primeira transição excitónica, assim como de dois processos de maior energia, a cerca de 3.0 eV e 3.6 eV, correspondentes a transições de estados excitados de maior energia, cuja posição corresponde sensivelmente à observada nos espectros ópticos de absorção dos QDs isolados (Figura 4.9).

Na Figura 4.12 estão representados os espectros de emissão e de excitação dos NCs de QDs (2.25)-PtBA. A assimetria dos picos de emissão observada para os espectros dos QDs isolados é fortemente atenuada após a incorporação dos QDs nas matrizes poliméricas, observando-se o quase desaparecimento da componente de maior energia. Comparando os espectros de emissão dos materiais NCs com os respectivos QDs isolados, a excitação a diferentes comprimentos de onda contribui também para o mesmo pico de emissão, embora se verifique que a contribuição máxima para o processo de emissão não ocorre a 420 nm como tinha sido observado para os QDs isolados, mas ocorre agora para 380 nm. As diferenças mais significativas no processo de emissão dos NCs podem ser observadas nos espectros de PLE. As contribuições observadas para os QDs isolados aparecem

atenuadas, sendo o processo de emissão dominado por transições que ocorrem a maiores valores de energia, a cerca de 3.37, 3.80 e 4.60 eV, processos que ocorrem sensivelmente aos mesmos valores de energia independentemente do NC e consequentemente do tamanho dos QDs considerado, pelo que podem ser atribuídos a transições que têm lugar na matriz polimérica (Figuras 4.12b e 4.13b).

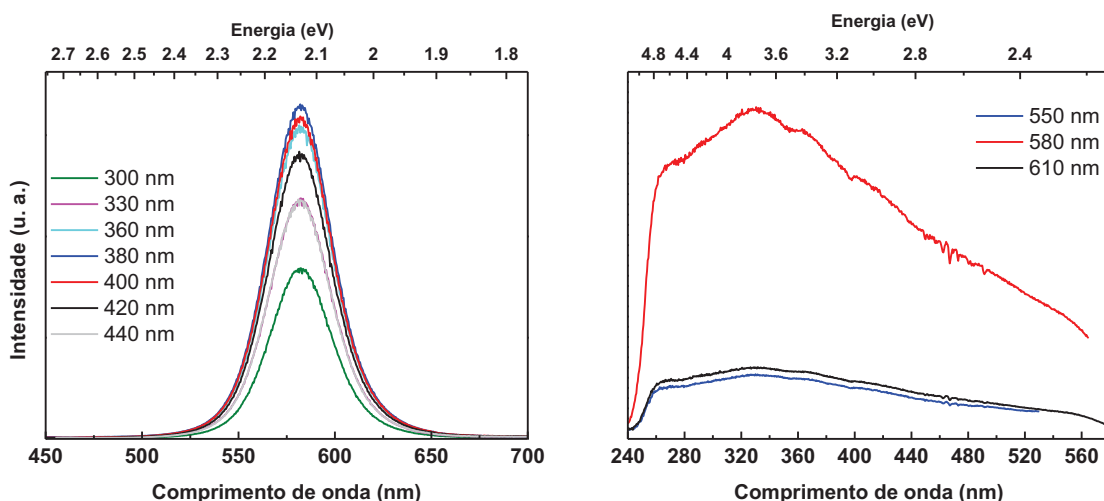


Figura 4.12. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs QDs (2.25)-PtBA à temperatura ambiente.

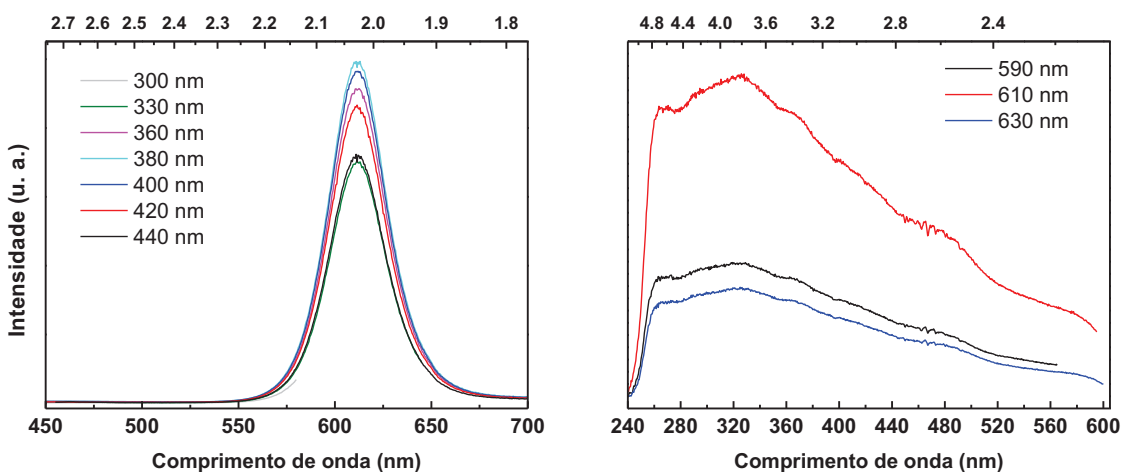


Figura 4.13. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs QDs (3.17)-PtBA à temperatura ambiente.

Os resultados de PL parecem apontar para uma estreita relação entre a matriz polimérica e os QDs, sugerindo a existência de uma interacção relacionada com o processo de preparação dos NCs. De facto, a mistura física de QDs e do polímero de PtBA (preparado nas mesmas condições do NC mas sem a presença de QDs) originam aspectos distintos

dos NCs obtidos por polimerização *in situ*. Os resultados de PL para os nanocompósitos obtidos por mistura física são apresentados na Figura 4.14. A mistura física dos QDs com o polímero de PtBA pré-formado resulta num desvio do máximo de emissão para menores comprimentos de onda relativamente ao espectro do NC de QDs (2.25)-PtBA (de 2.13 a 2.38 eV), o que poderá indicar uma diminuição acentuada do tamanho médio de partícula. Esta diminuição do tamanho médio é acompanhada por um alargamento da distribuição de tamanhos, podendo resultar de duas contribuições distintas. O processo de emissão continua a ser dominado pela recombinação excitónica dos QDs, já que a excitação a diferentes comprimentos de onda contribui invariavelmente para a mesma banda de emissão, centrada a 2.38 eV.

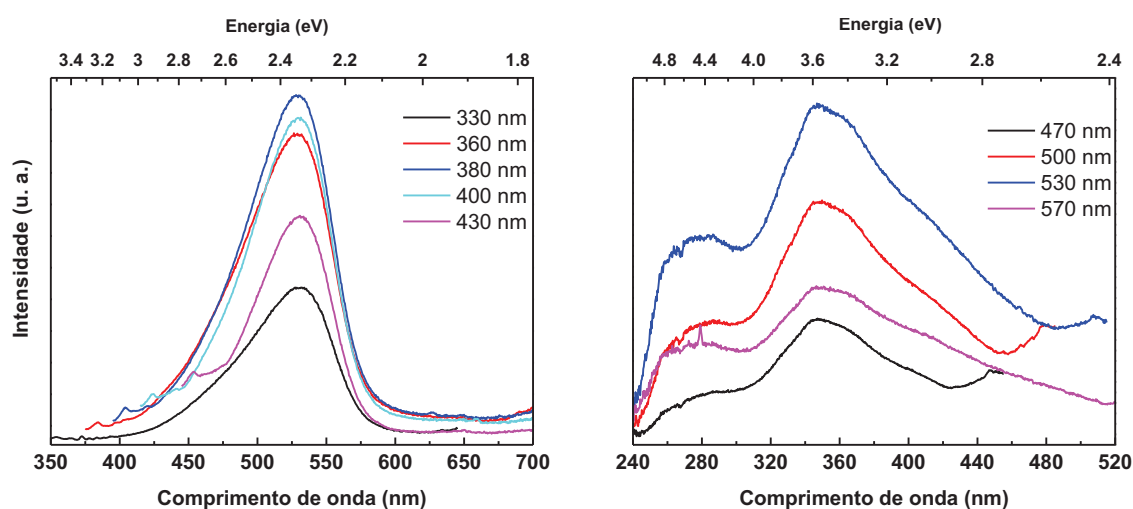


Figura 4.14. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs preparados por mistura física dos componentes (QDs (2.25) + PtBA) à temperatura ambiente.

Nos espectros de PLE da mistura física dos componentes (Figura 4.14b) observa-se um comportamento distinto do que foi observado para os NCs preparados por polimerização *in situ*. As contribuições atribuídas a transições intrínsecas dos QDs, deixam de ser observadas, sendo o espectro dominado por transições de maior energia, situadas neste caso a 3.39, 3.57 e 4.46 eV, que poderão ser atribuídas à matriz polimérica.

Foi estudada a incorporação de QDs em diferentes polímeros, de forma a avaliar a influência da matriz polimérica nas propriedades ópticas dos NCs. Para tal, utilizaram-se polímeros obtidos pela reacção de formas isoméricas do monómero de acrilato de butilo, isto é, a sua forma linear *n* e a forma *tert* (Figura 4.15). Os polímeros utilizados apesar de apresentarem uma estrutura semelhante, possuem propriedades diferentes, nomeadamente a temperatura de transição vítrea T_g , que condiciona as propriedades mecânicas dos NCs poliméricos resultantes: o PtBA que é rígido e o PnBA, flexível.

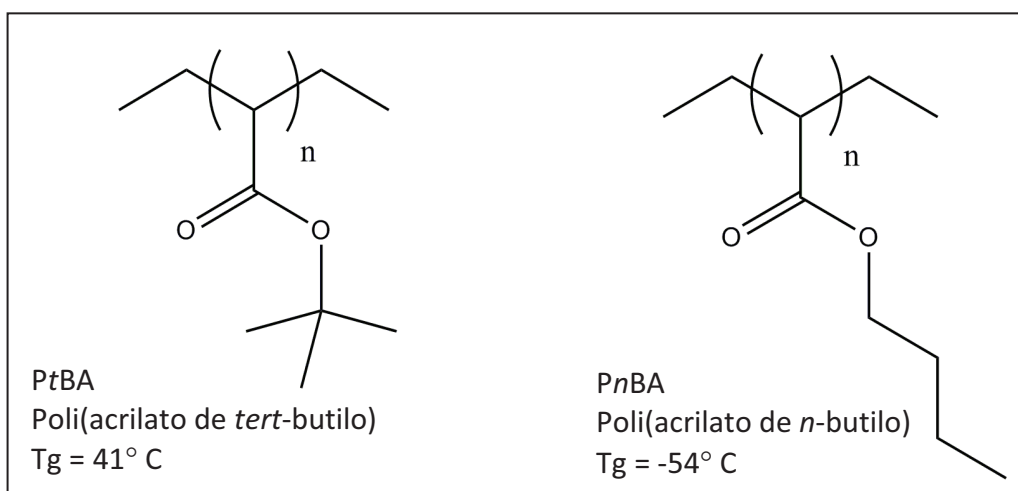


Figura 4.15. Estrutura química dos polímeros utilizados para preparar os NCs QDs-Polímero.

Os NCs de QDs incorporados nas duas matrizes poliméricas apresentam propriedades de PL semelhantes, embora os espectros de emissão dos QDs na matriz de PnBA apresentem uma distribuição mais alargada de tamanhos (Figura 4.16). Para o caso dos NCs com PnBA, o máximo de intensidade do pico de excitação ocorre para um comprimento de onda de excitação de 400 nm, ligeiramente inferior ao observado para os NCs de PtBA, para o qual o máximo de intensidade ocorria a 420 nm. Nos espectros de PLE, o processo de emissão é dominado por transições que ocorrem a maiores valores de energia, a cerca de 3.38, 3.60 e 4.75 eV, valores ligeiramente diferentes dos observados para a matriz de PtBA mas ainda assim superiores aos observados para as transições intrínsecas dos QDs isolados (Figura 4.10). Na Figura 4.17 apresentam-se os espectros de emissão e de PLE dos NCs para comparação. Apesar dos QDs utilizados na preparação dos dois NCs pertencerem ao mesmo lote, QDs (2.25), os espectros de emissão e de PLE apresentam ligeiras diferenças, nomeadamente no que diz respeito à simetria do pico de emissão,

observável apenas para o NC de QDs (2.25)-PtBA, e a absorção a maiores valores de energia observada para o mesmo NC, que poderá estar relacionado com a absorção pela matriz polimérica característica de cada polímero.

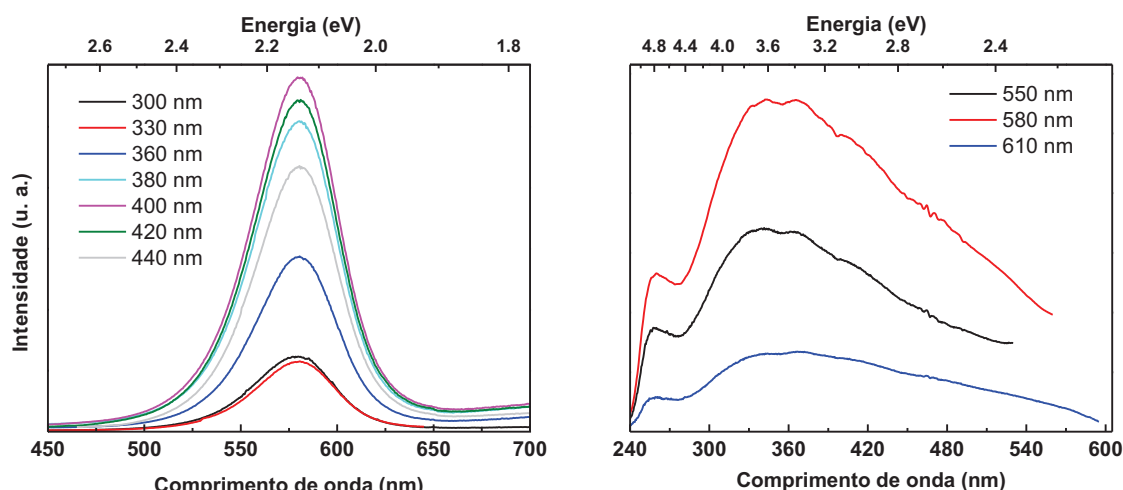


Figura 4.16. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs QDs (2.25)-PnBA à temperatura ambiente.

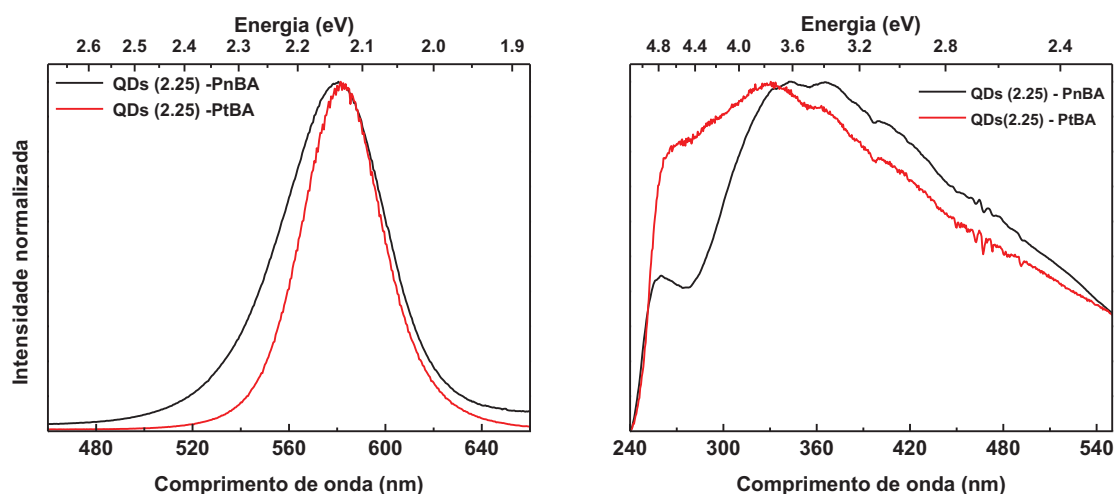


Figura 4.17. Espectros de emissão (à esquerda, $\lambda_{ex}=380$ nm) e de excitação (à direita, $\lambda_{em}=580$ nm) dos NCs de QDs (2.25) em diferentes matrizes poliméricas, PtBA e PnBA (temperatura ambiente).

A dependência das propriedades ópticas de QDs e de NCs de QDs em algumas matrizes poliméricas é conhecida [11, 29, 30]. Relativamente ao rendimento quântico (RQ) de emissão para os QDs de CdSe e de CdSe/ZnS isolados em solução, têm sido relatados valores de RQ que podem chegar até cerca de 0.50 [7, 17, 31]. De notar que a incorporação na matriz polimérica acarreta geralmente uma ligeira diminuição do RQ. Por exemplo, os RQ determinados para QDs de CdSe/ZnS incorporados em matrizes

poliméricas são de 0.40 em PMMA (polimetilmetacrilato) [31] e de 0.22-0.40 em PLMA (polilaurilmetacrilato) [7]. Excepção a este comportamento foi reportada para QDs em matrizes híbridas de diureasilos, para os quais se observa um ligeiro aumento do RQ [14].

Na Tabela 4.2 estão representados os valores do RQ determinados para os NCs. Os RQ dos NCs são comparáveis aos valores relatados para outros sistemas [14]. No entanto, os valores do RQ mostram um aumento significativo relativamente ao valor dos QDs isolados em solução, que era tipicamente de cerca de 6%. O aumento do RQ é mais evidente para os NCs de PtBA.

Tabela 4.2. Rendimento Quântico de emissão sob diferentes comprimentos de onda de excitação.

Nanocompósito	λ excitação	
	330 nm	390 nm
QDs (2.25)–PnBA	0.18	0.19
QDs (2.25)–PtBA	0.34	0.34
QDs (3.17)–PtBA	0.23	0.23

A espectroscopia de fotoluminescência resolvida no tempo (TRPL) é uma técnica de análise da dinâmica de fotoexcitação de materiais luminescentes, que revela a dependência temporal da emissão de radiação devido à transição, por canais radiativos ou não-radiativos, de populações de um ou mais estados excitados para o estado fundamental.

A aplicação da técnica de TRPL em QDs apresenta algumas particularidades inerentes à estrutura electrónica destes materiais. A estrutura electrónica de QDs compreende estados excitónicos intrínsecos, estados deslocalizados cuja densidade electrónica pode estender-se entre o núcleo de CdSe, a capa de ZnS e até a átomos das moléculas tensioactivas, e estados de superfície ou de armadilha (*trap states*), que consistem em níveis de energia devidos a defeitos, frequentemente próximos da superfície. Os estados nucleares são determinados principalmente pela composição, tamanho e forma, mas os estados superficiais são fortemente influenciados pelo tipo e extensão da cobertura pelas

moléculas de ligandos e do solvente, assim como por interações com moléculas de corantes e até entre QDs vizinhos [32]. Desta forma, a técnica de TRPL apresenta um comportamento multiexponencial que subsiste algumas ordens de grandeza além do tempo de vida típico dos estados excitónicos opticamente activos, na ordem de alguns nanosegundos, dos quais resulta o fenómeno da fotoluminescência [33]. A janela de medida é determinante neste tipo de análise, pois esta limita o tipo de fenómenos que podem ser analisados, este facto prende-se com a larga escala temporal dos fenómenos que poderão estar envolvidos no processo [32, 34].

O estudo da dependência temporal da PL foi realizado como forma de avaliar quais os processos envolvidos no ligeiro aumento do RQ observado para os NCs. Na Figura 4.18 estão representados o estudo de tempos de vida dos estados excitados e os valores médios do tempo de vida são apresentados na Tabela 4.3.

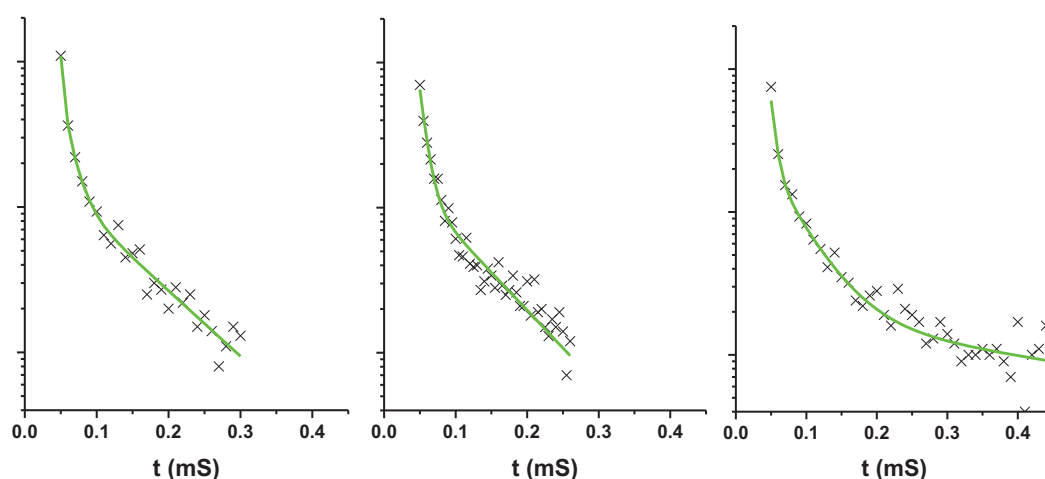


Figura 4.18. Tempos de vida do processo de emissão de PL dos NCs QDs (2.25) PtBA, QDs (2.25) PnBA e QDs (3.17) PtBA (da esquerda para a direita). A linha verde corresponde à função multiexponencial que melhor se ajusta aos valores experimentais.

A distribuição de tempos de vida típicos de QDs isolados de CdSe/ZnS, situa-se entre centenas de *ps* até algumas centenas de *ns* [35-39]. Embora os tempos de vida dos QDs isolados se situem fora dos limites detecção do equipamento utilizado (10^{-6} s), a incorporação na matriz polimérica produz um aumento significativo da escala temporal do mecanismo de emissão dos QDs. Os tempos de vida médios $\langle \tau \rangle$ determinados para os materiais NCs, são da ordem de alguns μ s (Tabela 4.3).

Um resultado semelhante foi reportado para QDs incorporados em matrizes híbridas de di-ureasilos [14]. O aumento de pelo menos três ordens de grandeza nos tempos de vida da emissão dos de NCs de QDs em matrizes híbridas (quando comparados com os tempos de vida de QDs isolados, tipicamente na ordem de ns) foi apontado como resultado de processos de transferência de energia entra a matriz e os QDs [14]. No entanto, a situação reportada nesse trabalho era sensivelmente diferente, devido à natureza emissiva das matrizes de di-ureasilos [40].

Tabela 4.3. Tempos de vida determinados para os diferentes nanocompósitos.

Materiais	<τ> (μs)
QDs (2.25) – (CdSe/ZnS)	--- ^a
QDs (3.17) – (CdSe/ZnS)	--- ^a
QDs (2.25)–PnBA	3.3
QDs (2.25)–PtBA	7.6
QDs (3.17)–PtBA	6.7
Mistura QDs (2.25) +PtBA	--- ^a

a) Fora da escala temporal do equipamento

A situação é significativamente diferente quando os QDs são incorporados na matriz polimérica por mistura física com um polímero pré formado. Para este caso os tempos de vida deverão ser suficientemente curtos para estarem fora da janela temporal limitada pelo equipamento utilizado.

Tendo em consideração os resultados apresentados até agora, podemos sugerir uma explicação para o aumento do RQ associado ao aparecimento de tempos de vida de emissão longos observados para os NCs. O encapsulamento dos QDs nas matrizes poliméricas poderá originar a formação de estados excitados na matriz polimérica (ou na interface QD-Polímero) que apresentam uma distribuição de níveis de energia com valores superiores aos níveis intrínsecos dos QDs. O aparecimento destes estados leva à deslocalização dos transportadores de carga dos estados armadilha situados nos QDs (ou na sua superfície) para a matriz polimérica, diminuindo assim a probabilidade de recombinação por esta via não-radiativa. O atraso no processo de recombinação e

aumento significativo dos tempos de vida ocorre por um processo de libertação/aprisionamento dos transportadores de carga. A distribuição destes estados excitados está geralmente associada a tempos de vida longos [34].

Esta hipótese é suportada por algumas observações. Em primeiro lugar, nos materiais NCs a absorção de radiação a diferentes comprimentos de onda contribui invariavelmente para apenas um processo de emissão, associado à recombinação excitónica nos QDs. Os valores de energia absorvida que contribuem para este processo de recombinação ocorrem preferencialmente a valores superiores aos observados para os QDs isolados e o valor do máximo de absorção é dependente do polímero utilizado. O aumento do RQ observado para os materiais NCs ocorre para valores de energia no UV, superiores aos valores de energia das transições intrínsecas dos QDs.

Por outro lado, a natureza multiexponencial e os tempos de vida longos dos NCs apontam para uma distribuição de barreiras de activação de processos de libertação/aprisionamento e indicia uma distribuição energética ou espacial de locais armadilha na periferia dos QDs [33].

Dependência das propriedades de PL com a temperatura

O conhecimento da dependência das propriedades de PL de QDs e NCs contendo QDs com a temperatura está na base do desenvolvimento de novos dispositivos que tirem partido deste comportamento. Na secção seguinte deste capítulo, são apresentados resultados da utilização destes NCs como sensores de temperatura suportados em fibras ópticas. Nesse sentido, a dependência das propriedades de PL dos NCs de QDs incorporados em matrizes poliméricas em função da temperatura foi também estudada. Os espectros de PL e de PLE dos NCs de QDs(2.25)-PtBA, QDs(2.25)-PnBA e QDs(3.17)-PtBA, estão representados na Figura 4.19.

O aumento da temperatura dos NCs, na gama de temperaturas aqui consideradas (tipicamente de 20 a 65° C), é acompanhado por alguns efeitos observáveis no pico de emissão: desvio para o vermelho do valor do máximo de emissão, aumento da largura a meia altura e diminuição da intensidade de emissão (Figura 4.19).

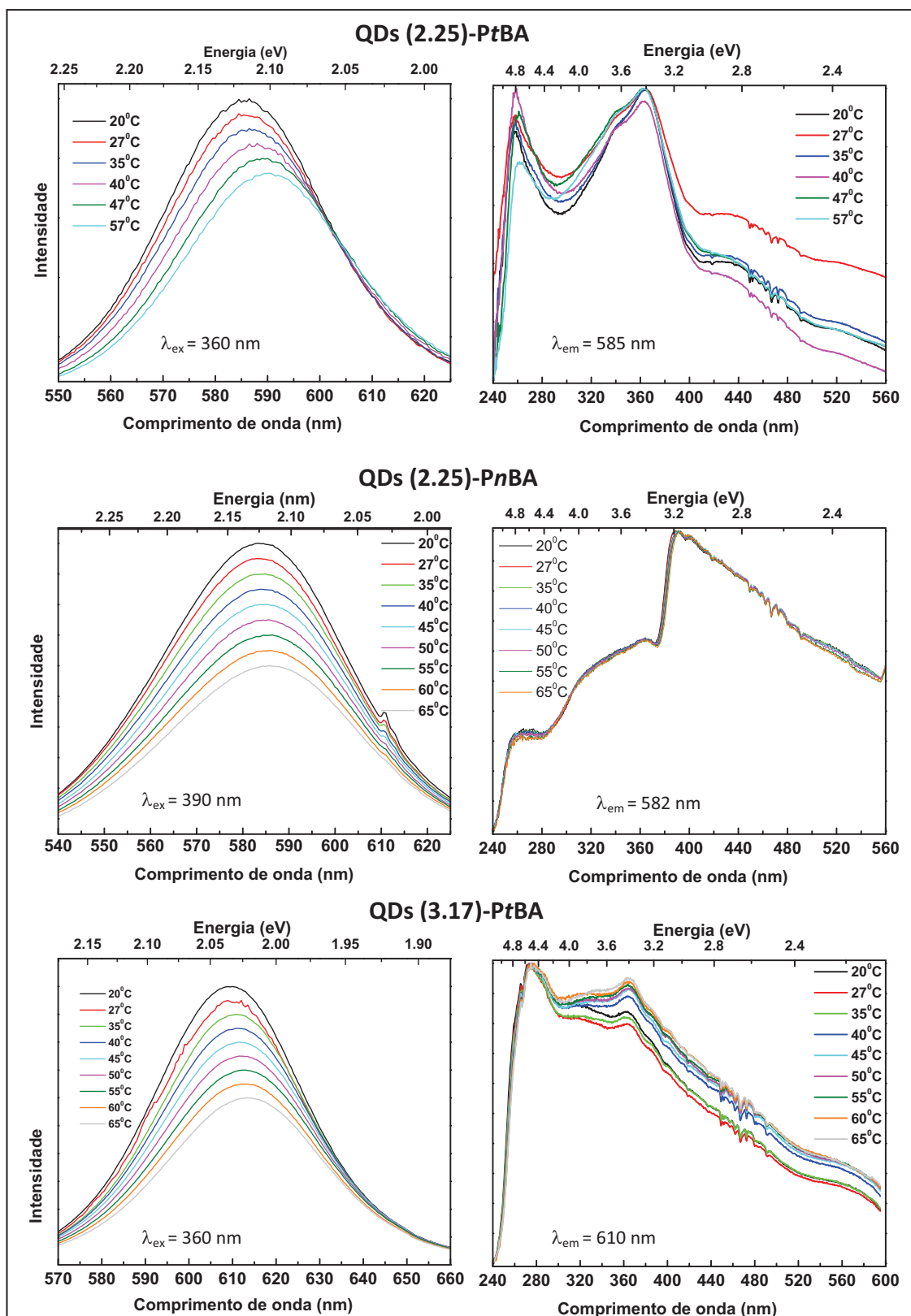


Figura 4.19. Espectros de emissão (à esquerda) e de excitação (à direita) dos NCs registados no intervalo de temperaturas entre 20 e 65° C.

Nos espectros de PLE observa-se ainda a oscilação da intensidade relativa dos espectros de excitação para os NCs de PtBA, o que poderá estar relacionado com a proximidade da temperatura de transição vítrea da matriz polimérica ($T_g \sim 41^\circ \text{C}$), quando comparada com a amostra do NC de PnBA ($T_g \sim -54^\circ \text{C}$), sem no entanto provocar qualquer desvio dos valores de energia ou qualquer alteração visível do processo de emissão (Figura 4.19 à direita). Tal como tinha sido estudado para NCs de CdSe em PnBA, as propriedades de emissão de PL não são sensíveis à temperatura de transição vítrea da matriz polimérica [11].

Dos efeitos observados, os dois primeiros (valor do máximo e largura a meia altura) foram quantificados ajustando os picos de emissão a distribuições Gaussianas, das quais foram extraídos os valores utilizados para construir a Figura 4.20.

Os dados experimentais podem ser ajustados de acordo com a relação de Varshni, que representa a dependência com a temperatura do hiato energético de semicondutores macrocristalinos:

$$E_g(T) = E_{g(0)} - \alpha \frac{T^2}{(T + \beta)} \quad (4.1)$$

em que $E_{g(0)}$ é o valor do hiato electrónico a 0K, α é o coeficiente de temperatura e β aproxima-se da temperatura de Debye do material θ_D . As curvas modelo estimadas ajustam-se satisfatoriamente aos valores experimentais (Figura 4.20) e são consistentes com os valores conhecidos na literatura para o CdSe macrocristalino, como representado na Tabela 4.4 [29].

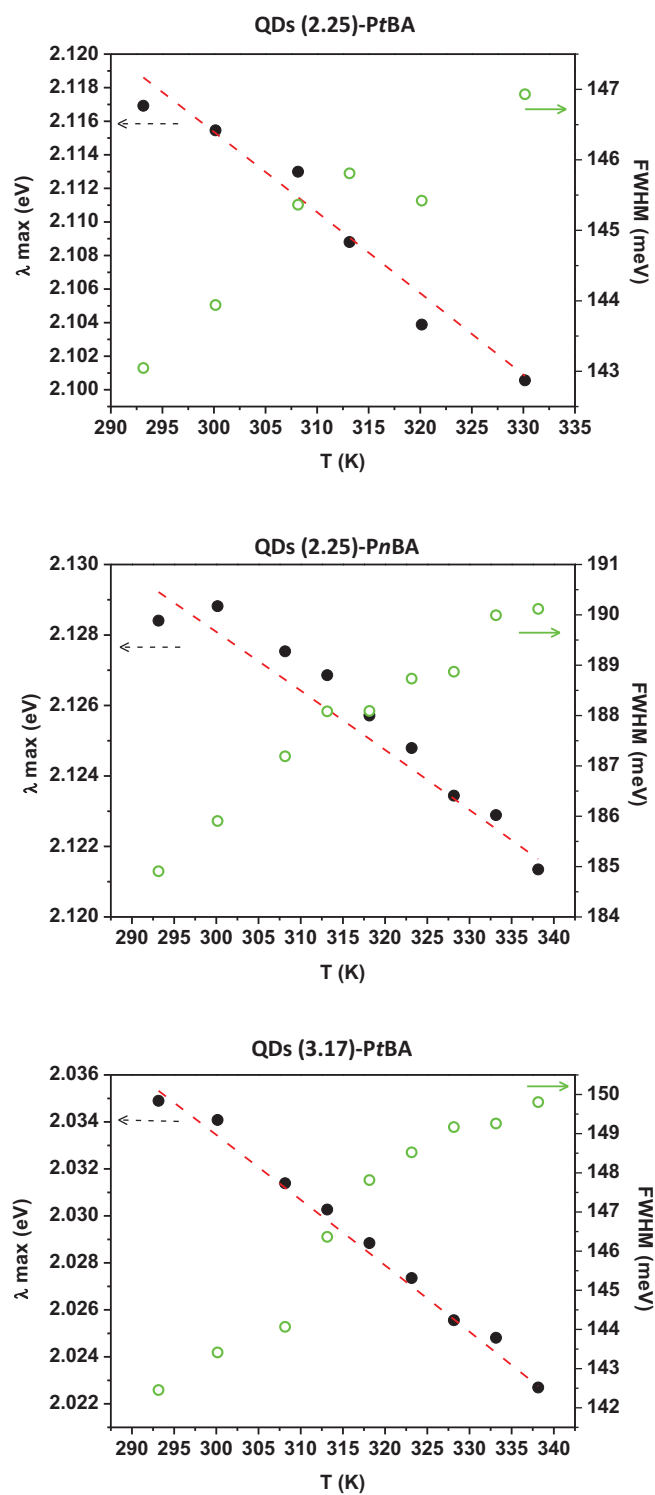


Figura 4.20. Variação da posição do máximo de emissão (esquerda) e da largura a meia altura (FWHM) (direita) no intervalo de temperaturas entre 20 a 65° C.

Tabela 4.4. Resultados do ajuste da posição do valor do máximo dos picos de emissão em função da temperatura, determinados pela relação de Varshni [29].

	$E_{g(0)}$ (eV)	α ($\times 10^{-4}$) (eV/K)	β (K)
Valores literatura [29]	---	2.8-4.1	181-315
QDs (2.25)–PtBA	2.213	6.046	257.3
QDs (2.25)–PnBA	2.161	2.238	312.0
QDs (3.17)–PtBA	2.088	3.715	312.9

A variação do hiato electrónico dos QDs na matriz polimérica segue um comportamento semelhante ao do CdSe macrocristalino, o que demonstra que a energia de confinamento é independente da temperatura da amostra [29]. Este resultado pode ser facilmente entendido imaginando um sistema de um poço de potencial tridimensional com uma barreira finita. Com o aumento da temperatura, a altura da barreira altera-se, devido à diferente dependência térmica do hiato energético do CdSe e ZnS, e o poço de potencial alarga-se devido à expansão térmica [29]. Este tipo de comportamento já tinha sido reportado para outros sistemas de QDs de CdSe/ZnS incorporados em matrizes poliméricas [29, 30].

Relativamente ao aumento da largura a meia altura (FWHM) das bandas de PL em função da temperatura (Figura 4.20), Valerini e colaboradores [29] demonstraram que o alargamento das bandas de PL com a temperatura resulta de uma combinação de factores. Em primeiro lugar ocorre um processo de dispersão devido ao acoplamento entre os transportadores de carga – fonões. Esta dependência do alargamento do pico excitónico com a temperatura tinha já sido demonstrada para semicondutores macrocristalinos [41]. Espera-se ainda o desfasamento induzido pelos defeitos superficiais ou estados armadilha, cuja contribuição para o alargamento homogéneo é significativa para o regime de tamanhos considerado [42]. Outra contribuição importante resulta do acoplamento entre QDs e a matriz orgânica, que foi demonstrada como a principal via de relaxação de fonões acústicos para QDs de InAs em matriz de PMMA [43].

Aplicação em sensores baseados em fibras ópticas

A detecção remota e monitorização de parâmetros bioquímicos têm uma importância crescente para uma ampla gama de aplicações e indústrias. A combinação de óptica integrada e tecnologias de fibra óptica com sensores baseados em fenómenos de luminescência, tem contribuído para o sucesso da tendência de miniaturização e a constante demanda pelo aumento de sensibilidade e selectividade, particularmente em aplicações ambientais e biomédicas [44].

Exemplos de dispositivos disponíveis comercialmente são os sensores de oxigénio e de pH) [45, 46]. No entanto, estes sensores apresentam limitações, nomeadamente a lixiviação e degradação das propriedades ópticas dos corantes fotoluminescentes utilizados. Além disso, a maioria dos sensores baseados em fenómenos de luminescência mostram uma forte dependência da intensidade, bem como do tempo de vida do estado excitado, com a temperatura. A introdução de nanocristais semicondutores luminescentes como sondas de detecção, pode potencialmente resolver algumas destas limitações [45, 46].

Na sequência dos estudos realizados sobre a dependência das propriedades de PL com a temperatura, discutidas na secção anterior, relata-se os resultados preliminares sobre o uso de NCs luminescentes de CdSe/ZnS-PtBA como sensores suportados em fibra óptica. As fibras de sílica foram preparadas a partir de fibras ópticas com núcleo/revestimento de diâmetros de 550/600 μm , respectivamente. A extremidade da fibra foi lentamente mergulhada em ácido fluorídrico (HF 50%) antes da deposição do filme de nanocompósito QDs-PtBA. Por este método, o revestimento foi removido e foram obtidas sondas de diâmetro mais reduzido, com um aumento da excitação/eficiência de colecta [47]. Os nanocompósitos foram depositados directamente na superfície da fibra por imersão numa suspensão do látex, seguida de secagem com fluxo de ar.

Utilizando a configuração representada na Figura 4.21, as fibras revestidas com os NCps foram excitadas com um díodo laser azul (473 nm) e a resposta de luminescência foi registada utilizando um espectrómetro de CCD. Observou-se que as fibras foram uniformemente revestidas com uma película de polímero, que exhibe uma forte

luminescência, como apresentado na Figura 4.22. O comportamento das sondas luminescentes foi então testado em diferentes condições de trabalho. Aqui são apresentados resultados que demonstram a potencialidade do NCp de QDs-PtBA para ser usado como sonda de temperatura. Este sistema adquire especial importância quando utilizado em combinação com sistemas de medição de outras propriedades que possuem uma dependência com a temperatura, como por exemplo, sondas de pH ou de O₂, pois possibilita a medição independente da temperatura, que é utilizada como referência [45, 46].

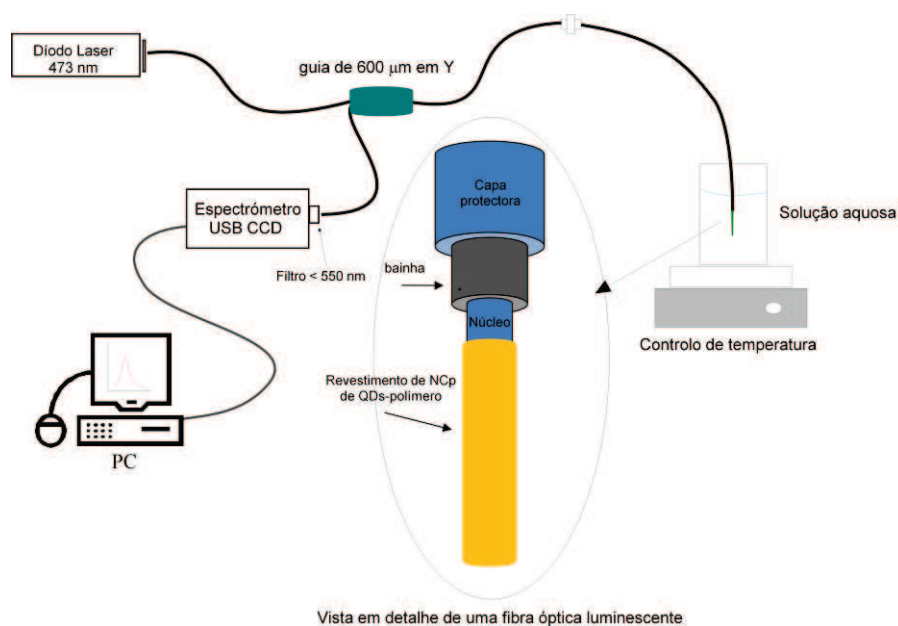


Figura 4.21. Dispositivo experimental para a caracterização das fibras ópticas funcionalizadas com QDs-Polímero.

Além disso, o material nanocompósito após hidrólise ácida pode ser enriquecido com grupos funcionais na superfície, proporcionando assim um substrato potencial para procedimentos de biofuncionalização. Esta é uma característica importante, pois pode abrir o caminho para a detecção de uma ampla variedade de analitos por estes sensores de fibra óptica, incluindo material biológico.

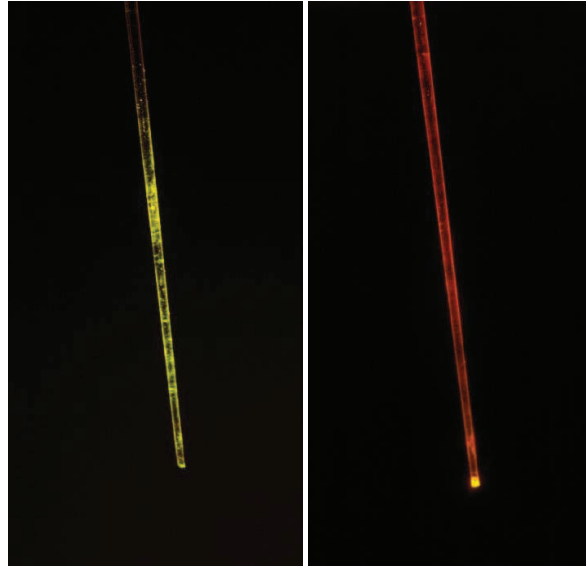


Figura 4.22. Fotografias das fibras ópticas revestidas com nanocompósitos de QDs-PtBA, com dois tamanhos de NPs (QDs(2.25)-PtBA e QDs(3.17)-PtBA), sob excitação de luz UV (473 nm).

O comportamento dos sensores de fibra óptica em função da temperatura foi investigado. O aumento da temperatura provoca uma diminuição da intensidade de luminescência e um desvio do comprimento de onda do máximo de emissão para menores valores de energia (Figura 4.23).

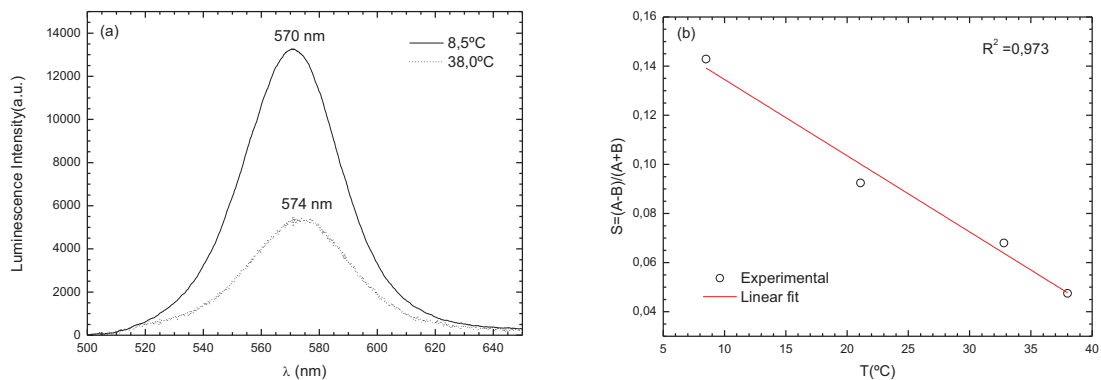


Figura 4.23. (a) Resposta espectral em função da temperatura de nanocompósitos QDs-PtBA imobilizados à superfície de uma fibra óptica. O aumento de Temperatura provoca uma diminuição (supressão) da intensidade de luminescência e o pico de emissão é ligeiramente desviado para menores energias. (b) A aplicação da relação $S = (A-B) / (A+B)$ permite obter uma resposta auto-referenciada com uma dependência linear com a temperatura.

Recorrendo a um esquema simples de processamento do sinal [48]:

$$S = \frac{A - B}{A + B} \quad (4.2)$$

em que A e B correspondem aos intervalos espectrais $A=[560; 570]$ nm e $B=[580; 590]$ nm, respectivamente. Desta forma S é proporcional à intensidade I (e T), mas independente da oscilação na potência óptica, permitindo obter medidas de temperatura auto-referenciadas. Desta forma foi possível obter uma relação de + 0.14 nm/°C.

4.3. Conclusões

Neste capítulo foram estudadas as propriedades ópticas de QDs de CdSe/ZnS e dos correspondentes materiais híbridos NCs, CdSe/ZnS-PBA, em matrizes poliméricas de poli(acrilato de butilo) (PBA), nas suas formas éster ramificada, *tert* e linear *n*. Os QDs de CdSe/ZnS passivados com moléculas orgânicas foram usados como materiais de partida para preparar NCs QDs-PBA por um processo de polimerização radicalar *in situ* em miniemulsão. As propriedades ópticas dos nanocompósitos foram estudadas sistematicamente por medidas de PL. Foi aqui demonstrado que a incorporação dos QDs parece ter uma forte influência nas propriedades ópticas dos NCs: de facto, os nanocompósitos preparados por polimerização *in situ* em miniemulsão, apresentam bandas estreitas de emissão quando comparados aos nanocompósitos obtidos por mistura física dos componentes. Os valores do rendimento quântico obtidos para os NCs são comparáveis com os valores reportados na literatura, apesar de se ter verificado um grande acréscimo relativamente aos QDs iniciais, de 6 até cerca de 34%. Os NCs de QDs obtidos por polimerização *in situ* apresentam tempos de vida até 3 ordens de grandeza mais longos dos valores descritos na literatura para os QDs isolados. Com base nos resultados obtidos, sugere-se que o aumento do RQ associado ao aparecimento de tempos de vida de emissão longos, resulta da formação de estados excitados na matriz polimérica (ou na interface QD-Polímero). O aparecimento destes estados leva à deslocalização dos transportadores de carga dos estados armadilha situados nos QDs (ou na sua superfície) para a matriz polimérica, diminuindo assim a probabilidade de recombinação por esta via não-radiativa. A recombinação destes estados armadilha está geralmente associada a tempos de vida longos. A intensidade e largura a meia altura dos picos de PL mostraram uma dependência linear com a temperatura. Esta propriedade

permite a utilização destes nanocompósitos como sensor de referência de temperatura em aplicações de detecção química. Como prova deste conceito, foram preparadas fibras ópticas uniformemente revestidas com uma película de nanocompósito e estudadas como sensores de temperatura em condições de trabalho.

4.4. Referências

1. Michalet, X., et al., *Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics*. Science, 2005. **307**(5709): p. 538-544.
2. Rajeshwar, K., de Tacconi, N. R., and Chenthamarakshan, C. R., *Semiconductor-based composite materials: Preparation, properties, and performance*. Chemistry of Materials, 2001. **13**(9): p. 2765-2782.
3. Fogg, D. E., Radzilowski, L. H., Blanski, R., Schrock, R. R., and Thomas, E. L., *Fabrication of quantum dot/polymer composites: Phosphine-functionalized block copolymers as passivating hosts for cadmium selenide nanoclusters*. Macromolecules, 1997. **30**(3): p. 417-426.
4. Fogg, D. E., Radzilowski, L. H., Dabbousi, B. O., Schrock, R. R., Thomas, E. L., and Bawendi, M. G., *Fabrication of quantum dot-polymer composites: Semiconductor nanoclusters in dual-function polymer matrices with electron-transporting and cluster-passivating properties*. Macromolecules, 1997. **30**(26): p. 8433-8439.
5. Trindade, T., Neves, M. C., and Barros, A. M. V., *Preparation and optical properties of CdSe/polymer nanocomposites*. Scripta Materialia, 2000. **43**(6): p. 567-571.
6. Esteves, A. C. C., Barros-Timmons, A., Monteiro, I., and Trindade, T., *Polymer encapsulation of CdE (E = S, Se) quantum dot ensembles via in-situ radical polymerization in miniemulsion*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2005. **5**(5): p. 766-771.
7. Lee, J., Sundar, V. C., Heine, J. R., Bawendi, M. G., and Jensen, K. F., *Full color emission from II-VI semiconductor quantum dot-polymer composites*. Advanced Materials, 2000. **12**(15): p. 1102-1105.
8. Talapin, D. V., Rogach, A. L., Kornowski, A., Haase, M., and Weller, H., *Highly luminescent monodisperse CdSe and CdSe/ZnS nanocrystals synthesized in a hexadecylamine-trioctylphosphine oxide-trioctylphosphine mixture*. Nano Letters, 2001. **1**(4): p. 207-211.
9. Potapova, I., Mruk, R., Prehl, S., Zentel, R., Basche, T., and Mews, A., *Semiconductor nanocrystals with multifunctional polymer ligands*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(2): p. 320-321.
10. Kim, S. and Bawendi, M. G., *Oligomeric Ligands for luminescent and stable nanocrystal quantum dots*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(48): p. 14652-14653.
11. Peres, M., et al., *A green-emitting CdSe/poly(butyl acrylate) nanocomposite*. Nanotechnology, 2005. **16**(9): p. 1969-1973.
12. Joumaa, N., Lansalot, M., Theretz, A., and Elaissari, A., *Synthesis of quantum dot-tagged submicrometer polystyrene particles by miniemulsion polymerization*. Langmuir, 2006. **22**(4): p. 1810-1816.
13. Fleischhaker, F. and Zentel, R., *Photonic crystals from core-shell colloids with incorporated highly fluorescent quantum dots*. Chemistry of Materials, 2005. **17**(6): p. 1346-1351.
14. Neves, M. C., et al., *Photoluminescent, transparent and flexible di-ureasil hybrids containing CdSe/ZnS quantum dots*. Nanotechnology, 2008. **19**(15): p. 155601-155609.

15. Peng, Z. A. and Peng, X. G., *Formation of high-quality CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals using CdO as precursor*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(1): p. 183-184.
16. Qu, L. H. and Peng, X. G., *Control of photoluminescence properties of CdSe nanocrystals in growth*. Journal of the American Chemical Society, 2002. **124**(9): p. 2049-2055.
17. Dabbousi, B. O., et al., *(CdSe)ZnS core-shell quantum dots: Synthesis and characterization of a size series of highly luminescent nanocrystallites*. Journal of Physical Chemistry B, 1997. **101**(46): p. 9463-9475.
18. Yu, J. H., Joo, J., Park, H. M., Baik, S. I., Kim, Y. W., Kim, S. C., and Hyeon, T., *Synthesis of quantum-sized cubic ZnS nanorods by the oriented attachment mechanism*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(15): p. 5662-5670.
19. Malik, M. A., O'Brien, P., and Revaprasadu, N., *A simple route to the synthesis of core/shell nanoparticles of chalcogenides*. Chemistry of Materials, 2002. **14**(5): p. 2004-2010.
20. Bawendi, M. G., Steigerwald, M. L., and Brus, L. E., *The Quantum-Mechanics of Larger Semiconductor Clusters (Quantum Dots)*. Annual Review of Physical Chemistry, 1990. **41**: p. 477-496.
21. Yu, W. W., Qu, L. H., Guo, W. Z., and Peng, X. G., *Experimental determination of the extinction coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals*. Chemistry of Materials, 2003. **15**(14): p. 2854-2860.
22. Reiss, P., Protiere, M., and Li, L., *Core/Shell Semiconductor Nanocrystals*. Small, 2009. **5**(2): p. 154-168.
23. Danek, M., Jensen, K. F., Murray, C. B., and Bawendi, M. G., *Synthesis of luminescent thin-film CdSe/ZnSe quantum dot composites using CdSe quantum dots passivated with an overlayer of ZnSe*. Chemistry of Materials, 1996. **8**(1): p. 173-180.
24. Murcia, M. J., Shaw, D. L., Woodruff, H., Naumann, C. A., Young, B. A., and Long, E. C., *Facile sonochemical synthesis of highly luminescent ZnS-shelled CdSe quantum dots*. Chemistry of Materials, 2006. **18**(9): p. 2219-2225.
25. Murray, C. B., Norris, D. J., and Bawendi, M. G., *Synthesis and Characterization of Nearly Monodisperse Cde (E = S, Se, Te) Semiconductor Nanocrystallites*. Journal of the American Chemical Society, 1993. **115**(19): p. 8706-8715.
26. Katari, J. E. B., Colvin, V. L., and Alivisatos, A. P., *X-Ray Photoelectron-Spectroscopy of Cdse Nanocrystals with Applications to Studies of the Nanocrystal Surface*. Journal of Physical Chemistry, 1994. **98**(15): p. 4109-4117.
27. Rossetti, R. and Brus, L., *Electron-Hole Recombination Emission as a Probe of Surface-Chemistry in Aqueous Cds Colloids*. Journal of Physical Chemistry, 1982. **86**(23): p. 4470-4472.
28. Skolnick, M. S. and Mowbray, D. J., *Self-assembled semiconductor quantum dots: Fundamental physics and device a tiplications*. Annual Review of Materials Research, 2004. **34**: p. 181-218.
29. Valerini, D., Creti, A., Lomascolo, M., Manna, L., Cingolani, R., and Anni, M., *Temperature dependence of the photoluminescence properties of colloidal CdSe/ZnS core/shell quantum dots embedded in a polystyrene matrix*. Physical Review B, 2005. **71**(23): p. 235409-235414.

30. Walker, G. W., Sundar, V. C., Rudzinski, C. M., Wun, A. W., Bawendi, M. G., and Nocera, D. G., *Quantum-dot optical temperature probes*. Applied Physics Letters, 2003. **83**(17): p. 3555-3557.
31. Song, H. and Lee, S., *Photoluminescent (CdSe) ZnS quantum dot-polymethylmethacrylate polymer composite thin films in the visible spectral range*. Nanotechnology, 2007. **18**(5): p. 055402-055407.
32. Jones, M. and Scholes, G. D., *On the use of time-resolved photoluminescence as a probe of nanocrystal photoexcitation dynamics*. Journal of Materials Chemistry, 2010. **20**(18): p. 3533-3538.
33. Jones, M., Lo, S. S., and Scholes, G. D., *Quantitative modeling of the role of surface traps in CdSe/CdS/ZnS nanocrystal photoluminescence decay dynamics*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009. **106**(9): p. 3011-3016.
34. Jones, M., Lo, S. S., and Scholes, G. D., *Signatures of Exciton Dynamics and Carrier Trapping in the Time-Resolved Photoluminescence of Colloidal CdSe Nanocrystals*. Journal of Physical Chemistry C, 2009. **113**(43): p. 18632-18642.
35. Kapitonov, A. M., Stupak, A. P., Gaponenko, S. V., Petrov, E. P., Rogach, A. L., and Eychmuller, A., *Luminescence properties of thiol-stabilized CdTe nanocrystals*. Journal of Physical Chemistry B, 1999. **103**(46): p. 10109-10113.
36. Oneil, M., Marohn, J., and Mclendon, G., *Dynamics of Electron-Hole Pair Recombination in Semiconductor Clusters*. Journal of Physical Chemistry, 1990. **94**(10): p. 4356-4363.
37. Oneil, M., Marohn, J., and Mclendon, G., *Picosecond Measurements of Exciton Trapping in Semiconductor Clusters*. Chemical Physics Letters, 1990. **168**(2): p. 208-210.
38. Efros, A. L., Rosen, M., Kuno, M., Nirmal, M., Norris, D. J., and Bawendi, M., *Band-edge exciton in quantum dots of semiconductors with a degenerate valence band: Dark and bright exciton states*. Physical Review B, 1996. **54**(7): p. 4843-4856.
39. Lee, W. Z., et al., *Recombination dynamics of luminescence in colloidal CdSe/ZnS quantum dots*. Nanotechnology, 2005. **16**(9): p. 1517-1521.
40. Carlos, L. D., Ferreira, R. A. S., Bermudez, V. D., and Ribeiro, S. J. L., *Full-color phosphors from amine-functionalized crosslinked hybrids lacking metal activator ions*. Advanced Functional Materials, 2001. **11**(2): p. 111-115.
41. Zhang, L. G., Shen, D. Z., Fan, X. W., and Lu, S. Z., *Exciton-phonon scattering in CdSe/ZnSe quantum dots*. Chinese Physics Letters, 2002. **19**(4): p. 578-580.
42. Takagahara, T., *Electron-phonon interactions in semiconductor nanocrystals*. Journal of Luminescence, 1996. **70**: p. 129-143.
43. Cerullo, G., De Silvestri, S., and Banin, U., *Size-dependent dynamics of coherent acoustic phonons in nanocrystal quantum dots*. Physical Review B, 1999. **60**(3): p. 1928-1932.
44. Wolfbeis, O. S., *Fiber-optic chemical sensors and biosensors*. Analytical Chemistry, 2004. **76**(12): p. 3269-3283.
45. Jorge, P. A. S., Martins, M. A., Trindade, T., Santos, J. L., and Farahi, F., *Optical fiber sensing using quantum dots*. Sensors, 2007. **7**(12): p. 3489-3534.

46. Jorge, P. A. S., Maule, C., Silva, A. J., Benrashid, R., Santos, J. L., and Farahi, F., *Dual sensing of oxygen and temperature using quantum dots and a ruthenium complex*. *Analytica Chimica Acta*, 2008. **606**(2): p. 223-229.
47. Maule, C., Goncalves, H., Mendonca, C., Sampaio, P., da Silva, J. C. G. E., and Jorge, P., *Wavelength encoded analytical imaging and fiber optic sensing with pH sensitive CdTe quantum dots*. *Talanta*, 2010. **80**(5): p. 1932-1938.
48. Jorge, P. A. S., Mayeh, M., Benrashid, R., Caldas, P., Santos, J. L., and Farahi, F., *Quantum dots as self-referenced optical fibre temperature probes for luminescent chemical sensors*. *Measurement Science & Technology*, 2006. **17**(5): p. 1032-1038.

Capítulo 5

Conclusões

Índice

5.1. Conclusões gerais	221
5.2. Trabalho futuro.....	224

5.1. Conclusões gerais

Neste trabalho foram apresentadas diversas estratégias de síntese de nanocompósitos híbridos de matriz polimérica, contendo nanopartículas inorgânicas com funcionalidades distintas. O interesse nestes nanocompósitos multifuncionais reside no enorme potencial que apresentam para novas aplicações tecnológicas, tais como optoelectrónica ou medicina.

Foram aqui discutidas estratégias de síntese de nanocompósitos por polimerização *in situ* em meio aquoso, assim como a modificação superficial de nanopartículas, com especial destaque para os métodos de polimerização radicalar convencional em miniemulsão. As nanopartículas inorgânicas utilizadas foram sintetizadas quer de acordo com métodos disponíveis na literatura, quer por métodos desenvolvidos pelo nosso grupo. Os métodos de síntese foram seleccionados de forma a originar partículas estáveis em solventes orgânicos.

No capítulo 2 foi demonstrada a preparação de nanocompósitos poliméricos contendo NPs de ouro com propriedades ópticas distintas, utilizando um método de polimerização *in situ* em miniemulsão. A principal motivação desta estratégia foi a produção de emulsões aquosas estáveis de partículas nanocompósitas cujas propriedades dependam não só das propriedades das NPs de ouro, mas também da morfologia final dos nanocompósitos. O ajustamento óptico dos nanocompósitos poliméricos contendo NPs de ouro, embora estas apresentem uma frequência de SPR específica, foi conseguido quer variando a natureza química da matriz polimérica (e assim o índice de refração do meio circundante) quer variando a morfologia final do compósito. O método aqui apresentado é distinto, e de facto alternativo, ao método mais comum que recorre a NPs de Au com diferentes morfologias e tamanhos.

As morfologias distintas observadas para os nanocompósitos de PS e PtBA, parecem indiciar a existência de interacções específicas entre as NPs e as cadeias poliméricas. As temperaturas distintas de transição vítrea, T_g do PS e PBA, associadas a diferentes solubilidades das NPs nos monómeros, parece estar na origem dos diferentes arranjos de NPs nos respectivos nanocompósitos, apesar de este aspecto necessitar de um estudo mais aprofundado. Ainda a este respeito, o tipo de estabilizante orgânico à superfície das NPs parece desempenhar um papel crucial em determinar o tipo de arranjo das NPs na matriz polimérica durante o processo de preparação do nanocompósito.

No capítulo 3 foi apresentada a preparação de látexes com funcionalidade magnética, por encapsulamento de NPs magnéticas passivadas com moléculas orgânicas, utilizando um método de polimerização *in situ* em miniemulsão. O estudo sistemático realizado utilizando NPs magnéticas de magnetite e maguemite como materiais de carga modelo, permitiram testar várias condições experimentais na preparação de nanocompósitos por polimerização em miniemulsão. Os resultados obtidos sugerem que o método convencional de polimerização *in situ* em miniemulsão, constitui um sistema de elevada mobilidade das NPs. Esta mobilidade parece ser o resultado de uma maior ou menor interacção com as cadeias de polímero, e foi apontada neste trabalho como principal explicação para as diferentes morfologias observadas.

Relativamente ainda a este ponto, a preparação de nanocompósitos por um método de polimerização diferencial constitui um sistema de mobilidade reduzida das NPs, o qual permitiu, nalguns casos específicos, obter nanocompósitos com morfologia do tipo núcleo-coroa. Neste tipo de polimerização, o processo de penetração do monómero/polímero nos espaços interpartícula parece ter sido atenuado.

O estudo das propriedades magnéticas de nanocompósitos de magnetite em matrizes poliméricas de PMMA, revelaram um efeito muito interessante da morfologia dos nanocompósitos nas propriedades magnéticas: a inclusão de NPs numa estrutura de núcleo-coroa na matriz polimérica, origina um aumento inesperado da magnetização de saturação (M_s), quando comparado com as NPs isoladas ou dispostas na superfície das partículas de polímero.

Ainda neste capítulo, e como prova de conceito foi demonstrada a bioconjugação de anticorpos IgG de origem bovina à superfície hidrolisada de nanocompósitos de $\text{CoPt}_3/\text{PtBA}$. Esta estratégia constitui uma via interessante de desenvolver materiais nanocompósitos com potencial aplicação em ensaios de separação magnética e análise de entidades biológicas *in vitro*, que pode ser estendido a outros materiais magnéticos.

No capítulo 4 foram estudadas as propriedades ópticas de QDs de CdSe/ZnS e dos correspondentes materiais híbridos NCs, CdSe/ZnS-PBA , em matrizes poliméricas de poli(acrilato de butilo) (PBA), nas suas formas éster ramificada, *tert* e linear *n*. Os QDs de CdSe/ZnS passivados com moléculas orgânicas foram usados como materiais de partida para preparar NCs QDs-PBA por um processo de polimerização radicalar *in situ* em miniemulsão. As propriedades ópticas dos nanocompósitos estudadas sistematicamente por medidas de PL, demonstram que a incorporação dos QDs promove, por um lado, uma melhoria do rendimento quântico de emissão e tempos de vida até 3 ordens de grandeza mais longos do que os valores descritos na literatura para os QDs isolados.

A explicação adiantada neste trabalho para o aumento do RQ associado ao aparecimento de tempos de vida de emissão longos, sugere a formação de estados excitados na matriz polimérica (ou na interface QD-Polímero). O aparecimento destes estados leva à deslocalização dos transportadores de carga dos estados situados nos QDs (ou na sua

superfície) para a matriz polimérica, diminuindo assim a probabilidade de recombinação por esta via não-radiativa. A recombinação envolvendo estes estados na matriz polimérica está geralmente associada a tempos de vida longos.

A intensidade e largura a meia altura dos picos de PL mostraram uma dependência linear com a temperatura. Esta propriedade permite a utilização destes nanocompósitos como sensor de referência de temperatura em aplicações de detecção química. Como prova deste conceito, foram preparadas fibras ópticas uniformemente revestidas com uma película de nanocompósito e estudadas como sensores de temperatura em condições de trabalho.

Numa perspectiva do design de materiais, os métodos descritos nesta tese fornecem uma estratégia de preparação duma variedade de materiais com propriedades ópticas e magnéticas ajustáveis para o desenvolvimento de novos dispositivos aplicáveis em inúmeras áreas de investigação. Adicionalmente, devido à sua estabilidade coloidal em soluções aquosas, parecem particularmente interessantes para aplicações clínicas de diagnóstico.

5.2. Trabalho futuro

Neste trabalho estabeleceram-se as bases para a compreensão e optimização dos mecanismos inerentes à obtenção de nanocompósitos de NPs inorgânicas e polímeros, utilizando métodos de polimerização *in situ* em miniemulsão, fornecendo algumas pistas dos mecanismos envolvidos na formação das diferentes morfologias observadas. Os diferentes nanocompósitos apresentados neste trabalho apontam para a existência de das interações que ocorrem ao nível das interfaces de natureza inorgânica/orgânica, das quais surgem funcionalidades distintas. As propriedades destes materiais nanocompósitos permitem antecipar futuras aplicações em diversas áreas tecnológicas.

A obtenção de estruturas multifuncionais, por inclusão de diferentes tipos de NPs, poderá permitir obter nanoestruturas que possuam diversas funções e possam desempenhar papéis diversos. A conjugação de funcionalidades, como por exemplo, a possibilidade de

separação/concentração magnética, aliadas á marcação óptica, poderão permitir o desenvolvimento de novas metodologias de diagnóstico.

Os resultados apresentados nesta tese revelam algumas fragilidades do método convencional de miniemulsão, tais como a dificuldade de controlar a distribuição do teor de NPs e o tamanho dos nanocompósitos, influenciando a homogeneidade final da amostra. Adicionalmente, este método não permite controlar o tamanho e distribuição de pesos moleculares das cadeias poliméricas. A este respeito surge a necessidade de introduzir métodos de polimerização controlada, como por exemplo os métodos de RAFT e ATRP.

Capítulo 6

Experimental



Índice

6.1. Breve nota sobre a segurança laboratorial e nanomateriais	229
6.2. Reagentes	230
6.3. Métodos de síntese	232
Capítulo 2	232
Capítulo 3	234
Capítulo 4	237
6.4. Técnicas e métodos de caracterização.....	239
6.5. Referências	245

6.1. Breve nota sobre a segurança laboratorial e nanomateriais

Sob o ponto de vista de segurança, a principal preocupação associada à síntese de nanopartículas é o escasso conhecimento dos efeitos de dimensão ao nível dos sistemas biológicos. Quando os materiais se encontram sob a forma de nanopartículas a sua reactividade química aumenta. Esta situação é particularmente importante quando os nanomateriais são manipulados sob a forma de pós soltos, pois as partículas podem ser inaladas em quantidade suficiente de modo a serem consideradas um risco para a saúde [1].

Os métodos de avaliação tradicionais para determinar a segurança dos químicos tradicionais não são necessariamente aplicáveis aos nanomateriais. Deverá haver responsabilidade e um acesso controlado de modo a garantir que os potenciais riscos são

ponderados. Pelo que os nanomateriais devem ser considerados como produtos químicos de toxicidade desconhecida.

Neste trabalho, antes de iniciar qualquer reacção foram consultadas as fichas de segurança (MSDS) dos reagentes químicos envolvidos. Todas as reacções decorreram dentro de uma hotte bem ventilada, seguindo as normas de segurança estabelecidas pelo Departamento de Química da Universidade de Aveiro, com equipamento básico de protecção (luvas, bata e óculos de protecção). Todos os resíduos químicos resultantes das reacções foram colocados em recipientes adequados e eliminados segundo os procedimentos em vigor no Departamento de Química. Não se utilizaram procedimentos que pudessem originar a libertação de pós livres em ambiente de laboratório.

Os materiais sólidos e as soluções contendo complexos de Cádmio foram manipulados com especial cuidado, uma vez que os compostos de Cádmio são tóxicos. Os restos contendo Cádmio foram colocados em recipientes adequados para posterior eliminação segundo os procedimentos em vigor no Departamento.

6.2. Reagentes

Os produtos comerciais utilizados no decorrer deste trabalho foram adquiridos a várias empresas e foram utilizados como recebidos, com excepção do etanol e do metanol que foram mantidos secos com peneiros moleculares (4 Å). Os monómeros foram purificados através de uma coluna de alumina (Al_2O_3 , Merck - Aktiv Neutral, 70-30 mesh, ASTM) e preservados a 4° C. A água foi purificada utilizando uma unidade de purificação Sation 8000/9000.

Solventes

Solvente	Marca	Pureza
Clorofórmio	Lab-Scan	99.5 %
Diclorometano	Fluka	> 99.9 %
Etanol	Riedel-deHaën	p.a.
Isopropanol	Lab-Scan	99.7 %
Metanol	Fluka	> 99.5 %
<i>n</i> -Hexano	Fluka	95.0 %
Tetrahidrofurano	Panreac	99.5 %
Tolueno	Panreac	p.a.

Reagentes

Reagente	Abrev.	Fórmula Química	Marca	Pureza
2,2'-azobis(isobutironitrilo)	AIBN	$(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{CN})\text{N}=\text{NC}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$	Fluka	98.0 %
Acetato de cobalto (II) tetrahidratado		$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Co} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Fluka	99.0 %
Ácido cloroáurico		$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich	99.9 %
Ácido esteárico		$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Aldrich	99.5 %
Ácido hexacloroplatínico hidratado		$\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$	Aldrich	99.9 %
Ácido oleico	AcO	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Aldrich	99.0 %
Acrilato de <i>n</i> -butilo	<i>n</i> BA	$\text{CH}_2=\text{CHCOO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	Aldrich	≥ 99.0 %
Acrilato de <i>tert</i> -butilo	<i>t</i> BA	$\text{CH}_2=\text{CHCOOC}(\text{CH}_3)_3$	Aldrich	98.0 %
Álcool cetílico	CA	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{OH}$	Sigma	99.0 %
Alumina (Aktiv Neutral, 70-30 mesh)		Al_2O_3	Merck	
Anticorpos IgG de origem bovina	IgG		Sigma	95.0 %
Cloreto de cádmio monohidratado		$\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Merk	p.a.
Cloreto de cobalto hexahidratado		$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Panreac	98.0 %
Cloreto de ferro (II) tetrahidratado		$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Aldrich	99.9%
Cloreto de ferro (III) hexahidratado		$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Aldrich	97.0%
Cloridrato de tris-(hidroximetil)- aminometano	TRIS	$\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3 \text{HCl}$	Sigma	99.0%
Cupferron	Cup	$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$	Fluka	97.0 %
Dietilditiocarbamato de sódio tri-hidratado	NaEt_2dtc	$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCSSNa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich	

Dodecilsulfato de sódio	SDS	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$	Aldrich	98.0 %
Estireno	Sty	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CH}_2$	Aldrich	99.0 %
Etilenodiamina	en	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	Aldrich	99.0 %
Etilenoglicol	EG	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	Aldrich	99.0 %
Hexadecano	HD	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$	Aldrich	99.0 %
Hidrocloreto de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida	EDAC	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3\cdot\text{HCl}$	Sigma	
Hidrogenocarbonato de sódio		NaHCO_3	Pronalab	99.5 %
Metacrilato de metilo	MM	$\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOCH}_3$	Aldrich	99.9 %
Nitrato de zinco (II) hexahidratado		$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Panreac	98.0 %
Oleilamina	OA	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2\text{NH}_2$	Fluka	> 70.0 %
Óxido de trioctilfosfina	TOPO	$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7]_3\text{PO}$	Fluka	> 97.0 %
persulfato de potássio	KPS	$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Panreac	98.0 %
Selénio (100 mesh)			Aldrich	99.5 %
Solução de amoníaco		NH_4OH	Riedel-deHaën	25.0 %
Trioctilamina	TOA	$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7]_3\text{N}$	Aldrich	98.0 %
Trioctilfosfina	TOP	$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7]_3\text{P}$	Aldrich	> 90.0 %

6.3. Métodos de síntese

Capítulo 2

Síntese de NPs de Ouro

As NPs de ouro estabilizadas com moléculas orgânicas foram sintetizadas por uma modificação do método poliol descrito por Fievet e colaboradores [2, 3]. Uma solução de $\text{HAuCl}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.15 M) em etilenoglicol (10 mL) é injectada numa solução de trioctilamina (30 mL) e oleilamina (10 mL) a uma temperatura de 120°C, sob agitação e sob fluxo de N_2 . A mistura reaccional é mantida a esta temperatura por um período de 30 min. Com o decorrer da reacção, a solução de cor inicial amarela foi adquirindo uma cor rubi. Após arrefecer até à temperatura ambiente, a formação de duas fases é observada: uma fase superior de cor rubi escura, rica em NPs de ouro, e uma fase inferior transparente, consistindo principalmente em etilenoglicol. As NPs foram purificadas de forma a

remover o excesso de estabilizantes (TOA e OA), repetindo (3x) um processo de dispersão em tolueno seguida de precipitação com 2-propanol e metanol e isoladas por centrifugação.

Substituição das moléculas estabilizantes de TOA/OA por TOPO

De forma a substituir o estabilizante de TOA/OA para TOPO, as NPs de ouro sintetizadas e lavadas como descrito anteriormente, foram dispersas numa solução de TOPO (50 mL) a 120° C, por um período de 4 horas. As NPs de ouro revestidas com TOPO foram lavadas com metanol e isoladas por centrifugação.

Síntese de nanocompósitos de Au-Polímero

Os nanocompósitos de Au foram preparados por um método de polimerização *in situ* em miniemulsão convencional. As NPs após remoção do excesso de agente estabilizantes foram dispersas na solução do monómero. A massa de NPs de ouro utilizadas nas polimerizações descritas foi cerca de 100 mg.

Polimerização por miniemulsão convencional

A preparação de NCs de NPs em matrizes poliméricas pela técnica de polimerização *in situ* em miniemulsão foi realizada genericamente da seguinte forma:

Para um volume de 25 ml, as NPs após lavagem para remover o excesso de estabilizantes foram dispersas homogeneamente numa solução do monómero pretendido (0.032 mol) contendo o agente hidrófobo HD (3.31×10^{-4} mol), de forma a obter uma dispersão estável. Esta suspensão é então adicionada a uma solução de SDS (2×10^{-4} mol) e NaHCO₃ (9.81×10^{-4} mol) e mantida sob agitação vigorosa por um período de 30 min. Após esse período a mistura foi sujeita a sonicação (utilizando um sonicador do tipo sonda da Sonics-Vibracel, amplitude 80 %, potência 20W) durante 7 min. De forma a evitar o aquecimento excessivo da mistura, devido á acção dos ultra-sons, o recipiente é mantido num banho de gelo durante o processo. A miniemulsão obtida é transferida para um reactor em vidro (com capacidade de 30 mL), equipado com um banho termoestabilizado, agitador mecânico e sob fluxo de N₂. Após purga com N₂, a temperatura da miniemulsão foi fixada em $70 \pm 1^\circ \text{C}$ e uma solução aquosa de KPS (6.78×10^{-5} mol), previamente desarejada sob fluxo de N₂, foi adicionada à mistura. O momento da adição do iniciador

foi estabelecido como tempo inicial da reacção de polimerização. A reacção ocorre por um período de 4 h, sob agitação mecânica de 500 rpm. O grau de conversão do monómero foi avaliado por gravimetria e valores típicos acima de 90 % foram obtidos.

Capítulo 3

Síntese de NPs de CoPt₃ e FePt₃

As NPs de ligas metálicas de CoPt₃ (ou FePt₃), estabilizadas com moléculas orgânicas foram sintetizadas usando uma modificação do método poliol descrito por Fievet e colaboradores [2, 3]. Uma solução de CoCl₂.6H₂O (ou FeCl₃.6H₂O) (0.005 M) e H₂(PtCl₆).xH₂O (0.015M) em etilenoglicol (5 mL), é adicionada a uma solução de trioctilamina (25 mL) e oleilamina (1 mL), num balão de três tubuladuras equipado com um termómetro, agitador mecânico e entrada de N₂. A mistura é aquecida rapidamente até uma temperatura de 180° C, sob agitação e fluxo de N₂ e mantida a esta temperatura por um período de 30 min. Com o decorrer da reacção, a solução inicial de cor alaranjada amarela foi adquirindo uma cor verde escura e finalmente forma-se um sólido de cor preta. Após arrefecer até à temperatura ambiente, as NPs foram purificadas por dispersão em tolueno, precipitadas com 2-propanol e metanol e isoladas por centrifugação. As NPs foram dispersas em tolueno e precipitadas de forma a remover o excesso de estabilizantes (TOA e OA).

Nanocompósitos de CoPt₃/PtBA e FePt₃/PtBA

Os NCps de CoPt₃/PtBA e FePt₃/PtBA foram preparados por um método de polimerização *in situ* em miniemulsão convencional como descrito anteriormente para os NCps de ouro. A massa de NPs de CoPt₃ ou FePt₃ utilizadas nas polimerizações descritas foi cerca de 15 mg.

Biofuncionalização de NCps de CoPt₃/PtBA com anticorpos IgG

Numa etapa inicial, a superfície das partículas de NCps foi modificada por hidrólise dos grupos éster do PtBA. Para tal, as partículas de CoPt₃/PtBA, separadas magneticamente da emulsão de partículas de polímero livre, foram dispersas em 30 mL duma mistura de dioxano:HCl (5:1) e colocadas sob refluxo, por um período de 4 h. Após remover o

dioxano por evaporação, o NCp foi lavado alternadamente em THF e água por três ciclos, e tratado com uma solução aquosa diluída de Na_2CO_3 .

O acoplamento do anticorpo ao látex magnético foi realizado através de uma etapa de activação dos grupos carboxílicos utilizando carbodiimida. Para tal, 4 mg do látex magnético foi disperso numa solução de tampão fosfato (em 4.5 mL) no qual tinha sido previamente disperso 3.6 mg de anticorpo IgG de origem bovina. A esta suspensão adicionou-se 0.5 mL de uma solução de EDAC (4 mg mL^{-1}) preparada de fresco e a suspensão foi agitada por 1 h. Os látexes foram separados magneticamente e lavados com o tampão de TRIS. Finalmente, foram lavados com soluções de força iónica crescente e após cada um destes passos, com o tampão TRIS. De forma a avaliar a ligação de anticorpos por adsorção não específica, uma experiência controlo foi efectuada seguindo o protocolo anterior mas sem adicionar o reagente de acoplamento EDAC.

O tampão de acoplamento utilizado foi um tampão fosfato, 0.01 M Na_2HPO_4 , 0.15 M NaCl, pH 5.5. O tampão de inibição foi o tampão TRIS (Cloridrato de tris-(hidroximetil)-aminometano 0.01 M, 0.15 M NaCl, pH 7.4). As soluções tampão de força iónica crescente utilizadas foram: PBS 0.5 M NaCl (0.01 M Na_2HPO_4 , 0.5 M NaCl, pH 7.4) e PBS 1 M NaCl (0.01 M Na_2HPO_4 , 1 M NaCl, pH 7.4).

Síntese de NPs de maguemite, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$

O precursor FeCup_3 foi preparado como descrito na literatura [4]. As NPs de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, foram preparadas por adaptação de um método descrito na literatura [4]. Uma solução de TOA (7g) é colocada num balão de três tubuladuras equipado com um termómetro, agitador mecânico e entrada de N_2 . Esta solução é aquecida até uma temperatura de 250°C , sob fluxo de N_2 . Após atingir esta temperatura é injectado rapidamente 4 mL duma solução de FeCup_3 em OAm (0.3M), previamente desarejada sob fluxo de N_2 durante 1h. A reacção é mantida à temperatura de 250°C , durante 30 min. A mistura é deixada arrefecer até à temperatura ambiente e é lavada com 2-propanol, para retirar o excesso de estabilizantes.

Síntese de NPs de magnetite, Fe₃O₄

As NPs de magnetite, Fe₃O₄, foram sintetizadas por uma adaptação ao método de Massart, procedendo à co-precipitação e redução de sais de Fe (II) e Fe (III) em meio alcalino (NaOH), tendo-se tornado a superfície das NPs hidrofóbica por reacção com ácido oléico [5]. 24g de FeCl₃·6H₂O e 9.82g FeCl₂·4H₂O são dissolvidos em 100 mL de água ultrapura sob fluxo de N₂ sob agitação vigorosa. A mistura é aquecida até 80° C e 50 mL de hidróxido de amónio foram adicionados à solução. A cor da solução muda de amarelo para preto imediatamente. Após 30 min adicionou-se 3.76 g de ácido oléico. A suspensão é mantida a 80° C por mais uma hora e meia. As NPs são depois lavadas com água ultrapura até o pH da solução ser neutro.

Nanocompósitos de NPs magnéticas-Polímero

Os NCps de maguemite-polímero e magnetite-polímero foram preparados por um método de polimerização *in situ* em miniemulsão convencional como descrito anteriormente. A massa de NPs de maguemite e magnetite utilizadas nas polimerizações descritas foram cerca de 100 mg para cada caso.

Os NCps de magnetite com diferentes polímeros foram preparados da mesma forma, substituindo apenas o monómero desejado na mesma quantidade molar.

Polimerização em bloco

Os NCps de magnetite preparados por polimerização em bloco foram obtidos dispersando 15 mg de magnetite no monómero desejado (volume de monómero, 3 mL), contendo 0.06g do iniciador AIBN. As suspensões foram dispersas sob ultra-sons e colocadas numa estufa a 70° C, durante 12h.

Polimerização por miniemulsão diferencial

Os NCps preparados por polimerização por miniemulsão diferencial foram preparados por adaptação de um método descrito na literatura [6]. Num reactor em vidro (com capacidade de 30 mL), equipado com um banho termoestabilizado, agitador mecânico e sob fluxo de N₂, adicionaram-se 0.0577g de SDS (2×10^{-4} mol) dissolvidas em 25 mL de água ultrapura. A esta solução é adicionado 0.5 g de NPs de magnetite, sob agitação. A suspensão é posteriormente dispersa por sonicação (Sonics-Vibracel, amplitude 80 %,

potência 20W) por 7 min. Após purga com N₂ durante 15 min, adicionou-se o monômero (0.032 mol) e a temperatura foi fixada em 70 ± 1° C. Após atingir esta temperatura é adicionado o iniciador KPS (6.78 × 10⁻⁵ mol) e a reacção ocorre por um período de 6 h, sob agitação mecânica de 500 rpm.

Capítulo 4

Síntese de estearato de cádmio (II)

O estereato de cádmio (Cd(St)₂) foi preparado pela reacção de hidróxido de cádmio (Cd(OH)₂) com ácido esteárico fundido a 363 K. O produto foi recristalizado com tolueno [7].

Síntese de nanopartículas de CdSe

As NPs de CdSe foram preparadas utilizando um método descrito na literatura [8]. Tipicamente, uma mistura de 0.2 mmol de estereato de cadmium (II) e 8 g de oleilamina (OAm) foram introduzidas num balão de três tubuladuras equipado com um termómetro, agitador magnético e entrada de N₂. A mistura foi aquecida até à temperatura pretendida para a síntese sob corrente de N₂. Quando a temperatura foi atingida injectou-se 2 mL de uma solução de TOPSe (1M). A mistura foi mantida à temperatura de reacção por 30 minutos e arrefecida depois até à temperatura ambiente.

Determinação do tamanho de NPs de CdSe

O tamanho das NPs foi estimado recorrendo a uma função empírica [9] que relaciona o tamanho de nanocristais de CdSe com a posição do primeiro pico excitónico no espectro de absorção no UV/Vis e o coeficiente de extinção molar:

$$D = (1.6122 \times 10^{-9})\lambda^4 - (2.6575 \times 10^{-6})\lambda^3 + (1.6242 \times 10^{-3})\lambda^2 - (0.4277)\lambda + (41.57) \quad (6.1)$$

$$\varepsilon = 5857(D)^{2.65} \quad (6.2)$$

em que D é o diametro das NPs (nm) e λ é o comprimento de onda do máximo do pico excitónico (nm) e ε é o coeficiente de extinção molar (L mol⁻¹ cm⁻¹).

Síntese de dietilditiocarbamato de zinco (II)

O complexo $[Zn(S_2CNEt_2)_2]$ foi preparado seguindo uma adaptação ao procedimento descrito na literatura para o composto $Cd(S_2CNEt_2)_2$ [10]. Neste caso fez-se reagir quantidades estequiométricas dos compostos $Na[S_2CN(CH_2CH_3)_2] \cdot 3H_2O$ e $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$. A uma solução aquosa de $Zn(NO_3)_2$ (0.1 M) foi adicionada uma solução aquosa de $Na[S_2CN(CH_2CH_3)_2] \cdot 3H_2O$ (0.2 M). O precipitado foi recolhido por filtração, lavado com água e deixado a secar no exsiccador.

O complexo de *bis*-dietilditiocarbamato de trisetilenodiamino zinco (II) foram sintetizados por incorporação de etilenodiamina na estrutura do dialquilditiocarbamato de zinco, por adaptação de um método descrito na literatura [11]. Para a síntese do $[Zn(en)_3](S_2CNEt_2)_2$, dispersou-se o dietilditiocarbamato de zinco, $Zn(S_2CNEt_2)_2$ (4mmol) em 20 mL de etanol, adicionou-se um excesso de uma solução 70% em-água (5 mL), aquecendo moderadamente para ajudar na dissolução completa. Quando a mistura arrefeceu até à temperatura ambiente, precipitaram cristais brancos e finos. O precipitado foi filtrado e lavado com etanol. O pó foi seco e guardado no exsiccador.

Determinação da quantidade de precursor de ZnS

Conhecendo o tamanho médio e a quantidade molar de NPs de CdSe (determinados a partir do espectro óptico), podemos calcular a quantidade de precursor necessária para fazer crescer uma camada de material de ZnS, (neste caso para uma monocamada) na superfície de NPs do núcleo de CdSe da seguinte forma:

$$V_{ZnS}(mc) = \frac{4}{3}\pi((r_{CdSe} + d)^3 - r_{CdSe}^3) \quad (6.3)$$

$$n_{ZnS}(mc) = \rho_{ZnS} * V_{ZnS}(mc) * 10^{-27} / m_{ZnS} \quad (6.4)$$

$$n_{ZnS} = n_{CdSe} * n_{ZnS}(mc) \quad (6.5)$$

em que $V_{ZnS}(mc)$ é o volume de uma capa consistindo numa monocamada (nm^3), r_{CdSe} é o raio do núcleo de CdSe (nm), d é a espessura de uma monocamada (nm), $n_{ZnS}(mc)$ é o número de unidades de monómero de ZnS por NP para uma monocamada (sem dimensões), ρ_{ZnS} é a densidade do material de ZnS macrocristalino da capa ($kg \cdot m^{-3}$), m_{ZnS}

é a massa de ZnS por partícula (kg), n_{ZnS} é a quantidade molar do precursor para fazer crescer uma capa ZnS e n_{CdSe} é a quantidade molar do núcleo de CdSe utilizada para a síntese (mmol) [12].

Revestimento de NPs CdSe com ZnS, CdSe/ZnS

No final da reacção de síntese das NPs de CdSe, e na mesma mistura reaccional, é injectada a quantidade de precursor $Zn(en)_3(dtc)_2$ calculada pela relação para obter uma monocamada, dispersa em 2mL de TOP a 100°C e deixado crescer por um período de 30 min.

Nanocompósitos QDs-Polímero

Os nanocompósitos de QDs-polímero foram preparados por um método de polimerização *in situ* em miniemulsão, de modo semelhante ao descrito anteriormente. A massa de QDs utilizados nas polimerizações descritas foi cerca de 15 mg.

Nanocompósitos por mistura física

Os NCps foram obtidos por mistura de polímero puro (levando à secura uma suspensão de polímero obtido por polimerização em miniemulsão convencional) com uma solução de QDs (15mg) em THF. Após mistura vigorosa dos componentes, o solvente (THF) é deixado evaporar.

6.4. Técnicas e métodos de caracterização

Análise elementar

A análise elementar de carbono, hidrogénio, azoto e enxofre foi efectuada num *Elemental Analyser Leco CHNS-932*, nos laboratórios da Universidade de Aveiro.

Análise por Emissão de Plasma Induzido (ICP)

As medidas de ICP foram efectuadas num instrumento Jobin Yvon no Laboratório Central de Análises na Universidade de Aveiro. Utilizaram-se soluções padrão de acordo com o metal em análise e a digestão da amostra foi realizada seguindo as metodologias adaptadas pelo laboratório.

Análises térmicas (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas num aparelho Shimadzu – TGA 50 Thermogravimetric Analyzer. Durante os tempos de análise e arrefecimento o equipamento foi mantido sob corrente de N₂. O grau de aquecimento utilizado foi de 5°C/minuto.

Microscopia de Força Atómica (AFM)

Para adquirir as imagens de topografia, foi utilizado um MultiMode Scanning Probe Microscopy, com um controlador NanoScope IIIa, no modo de *tapping*[®]. Para preparar as amostras para AFM, foram preparadas suspensões diluídas das amostras num solvente apropriado. De seguida, estas soluções foram depositadas numa placa de silício, ou numa placa de mica clivada previamente.

Dispersão dinâmica de luz (DLS) e potencial Zeta

O diâmetro hidrodinâmico das partículas foi determinado por Dispersão dinâmica da luz, DLS (*Dynamic light Scattering*) a partir de soluções diluídas utilizando um Zetasizer Nano ZS, da Malvern Instruments.

Espectroscopia fotoelectrónica de raios-X (XPS)

Os espectros de XPS (*X-Ray Photoelectron Spectroscopy*) das nanopartículas analisadas foram obtidos no Centro de Materiais de Universidade do Porto (CEMUP). Foi utilizado um equipamento LAS ESCALAB 200A usando a linha Al K_α como fonte de raio X. As amostras foram analisadas sob a forma de pó depositado sobre uma fita de carbono.

TEM

A microscopia electrónica de transmissão (TEM) foi realizada num microscópio Hitachi H-9000-NA (operado a 200 ou 300 kV) ou num microscópio Philips CM20T, operado a 200 kV, acoplados com sistemas de EDX para análise composicional.

A determinação do tamanho de partícula foi efectuada por análise de várias imagens de forma a contabilizar um número de partículas razoável (tipicamente mais de uma centena de ocorrências) de forma a obter uma média representativa da amostra.

SEM – EDX e STEM

A análise de Microscopia de Varrimento (SEM) e de Varrimento e Transmissão em SEM (STEM) foi realizado num microscópio Hitachi SU-70 e a análise de composição e mapeamento de EDX foram realizados utilizando um EDX Bruker Quantax 400.

FTIR

Os espectros de espectroscopia vibracional na região do infravermelho foram adquiridos utilizando um espectrómetro com transformada de Fourier (FTIR) da Mattson.

UV/Vis e Reflectância difusa

Os espectros ópticos nos modos de aquisição de absorção o de reflectância difusa foram adquiridos num espectrofotômetro Jasco V 560 UV/VIS.

Medidas de densidade óptica, OD.

As medidas de densidade óptica foram obtidas considerando o valor de absorvância a $\lambda = 600$ nm, nos espectros ópticos das soluções de magnetite nos diferentes monómeros (Figura 6.1) assim como nos espectros ópticos dos respectivos nanocompósitos poliméricos (Figura 6.2). Os valores obtidos foram utilizados para construir o gráfico da Figura 3.31 (Capítulo 3).

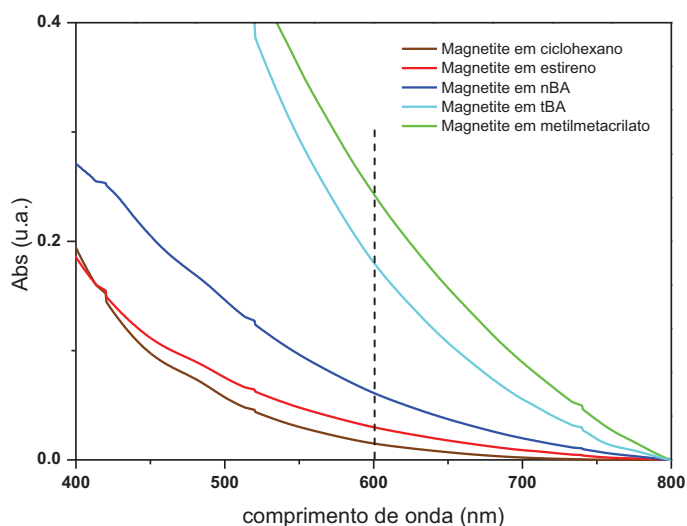


Figura 6.1. Espectros ópticos de soluções de magnetite em diferentes monómeros.

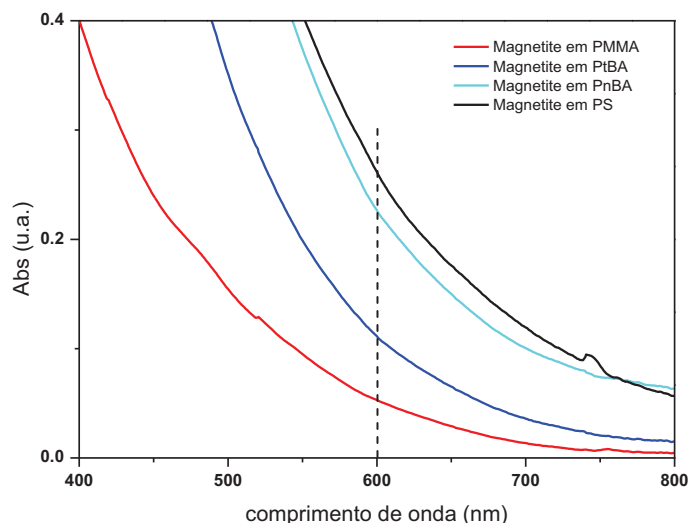


Figura 6.2. Espectros ópticos de amostras sólidas dos NCps de magnetite em diferentes polímeros.

XRD

Os difractogramas de raios-X de pós (XRD) foram obtidos num Philips X'Pert, com radiação Cu K α radiation ($\lambda=1.54178 \text{ \AA}$) operando a 40 kV/50 mA.

Medidas magnéticas

As medidas magnéticas foram realizadas num magnetómetro de tipo SQUID (*superconducting quantum interference device*), da Quantum Design, modelo MPMS, na gama de temperaturas 5–350 K e campos magnéticos aplicados até 10 kOe.

As medidas de Susceptibilidade magnética AC foram realizadas também num magnetómetro de tipo SQUID, da Quantum Design, modelo MPMS-XL, para valores de temperatura crescentes, com um campo AC aplicado com frequências na gama 9-900 Hz e amplitude de 3 Oe, após arrefecimento inicial da amostra desde a temperatura ambiente até 10 K, na ausência de campo aplicado (ZFC).

SAXS

A análise da dispersão de Raios-X de pequenos ângulos (SAXS) com detector 2D foi realizada num Bruker AXS NANOSTAR.

A aplicação mais simples do SAXS é avaliação do tamanho de partícula, forma, orientação e distribuição de tamanhos em dispersões diluídas, onde o factor de correlação partícula - partícula $S(q)$ é desprezável. A intensidade de SAXS depende da densidade electrónica, de

um factor de forma $F(q)$, $q=4\pi\sin\theta/\lambda$, em que θ é o ângulo de dispersão e λ é o comprimento de onda do raios-X, e um factor de estrutura $S(q)$ [13]. As aplicações mais básicas da técnica de SAXS são a determinação do tamanho e forma de partículas, orientação e distribuição de tamanhos.

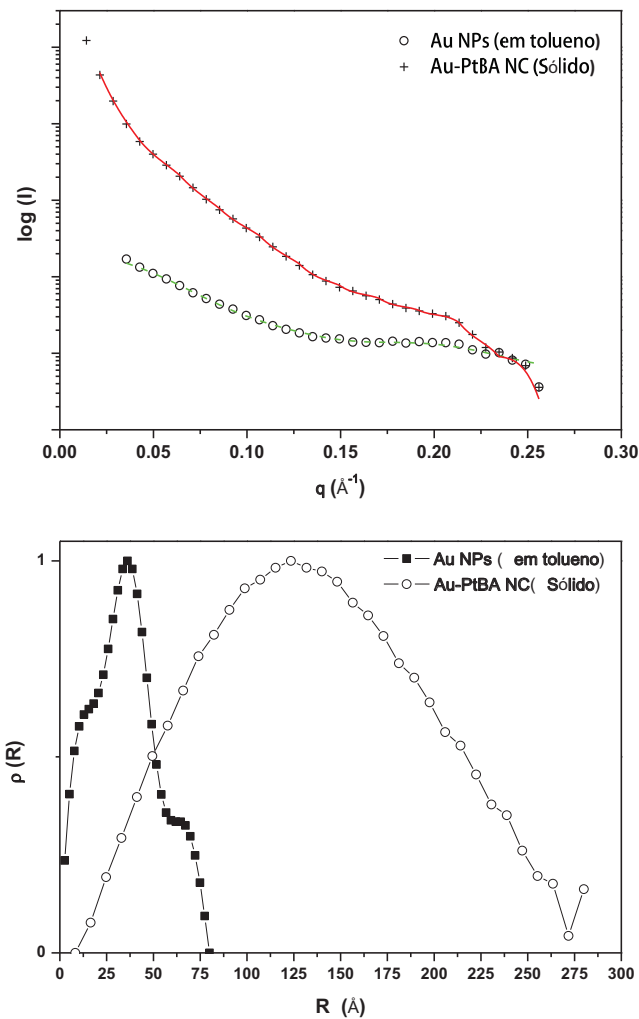


Figura 6.3. (imagem de cima) Intensidade de raios-X em função do ângulo e (imagem de baixo) Função de distribuição de distâncias, $\rho(r)$ para as NPs de Au e para os nanocompósitos Au-PtBA.

As amostras foram medidas na forma de solução diluída de NPs de Au em tolueno (num tubo de quartzo) ou na forma de um pó de NC de Au-PtBA suportado em fita-cola. As contribuições do equipamento e do material de suporte da amostra foram subtraídas ao sinal da amostra para cada um dos casos. De forma a avaliar a distribuição de tamanhos, os dados experimentais foram ajustados a um modelo teórico. A função de distribuição

foi obtida através de um processo iterativo utilizando o programa GNOM que faz parte do conjunto de programas ATSAS [14, 15].

Espectroscopia de fotoluminescência

Para a análise de fotoluminescência utilizou-se um espectrómetro de excitação dupla Fluorolog-3 Modelo FL3 – 2T e um espectrómetro de emissão única TRIAX 320 acoplado a um fotomultiplicador R928P. A fonte de excitação foi uma lâmpada de Xenon de 450 W. Os espectros resolvidos no tempo foram adquiridos à temperatura ambiente utilizando o sistema anterior mas com uma lâmpada de Xe-Hg pulsada (pulso de 6 μ s a meia largura e uma cauda de 20–30 μ s). Os rendimentos quânticos absolutos de emissão foram medidos à temperatura ambiente utilizando um sistema C9920-02 da Hamamatsu com uma lâmpada de Xenon de 150 W acoplada a um monocromador para discriminar comprimentos de onda. O sistema possuiu uma esfera integradora e analisador multicanal para detecção do sinal. A medida é a média de três medidas para cada amostra. O método é preciso até 10%.

Os espectros de PL foram registados à temperatura ambiente ou nas temperaturas referidas no texto.

A análise do PL resolvida no tempo foi realizada considerando um comportamento multiexponencial ajustando os valores experimentais de acordo com a equação:

$$\langle \tau \rangle = \sum_n \frac{\alpha_n \tau_n^2}{\sum_m \alpha_m \tau_m}; n = 4 \quad (6.6)$$

As curvas de ajuste foram obtidas pelo método dos mínimos quadrados, determinando as soluções para a função $f(x)$ utilizando o software *Matlab® R2009a*:

$$f(x) = \alpha_1 * \exp(\tau_1 * x) + \alpha_2 * \exp(\tau_2 * x) + \alpha_3 * \exp(\tau_3 * x) + \alpha_4 * \exp(\tau_4 * x) \quad (6.7)$$

Tabela 6.1. Parâmetros determinados para o ajuste dos resultados experimentais (grau de confiança de 95%).

Materiais	α_1	α_2	α_3	α_4	$\tau_1(\text{ms})$	$\tau_2(\text{ms})$	$\tau_3(\text{ms})$	$\tau_4(\text{ms})$	R^2	χ^2	$\langle \tau \rangle$ (μs)
QDs (2.25)											--- ^a
QDs (3.17)											--- ^a
QDs (2.25)–PnBA	211.3	1.527×10^4	1.7×10^5	2.15×10^9	0.0964	0.0143	0.0033	0.0033	0.9988	7.495	3.3
QDs (2.25)–PtBA	216.2	2.5×10^4	1.127×10^5	1×10^4	0.0833	0.0017	0.0094	0.0011	0.9910	11.8	7.6
QDs (3.17)–PtBA	20.31	540	7×10^5	10	0.5485	0.0456	0.0067	0.0018	0.9975	3.874	6.7
Mistura											--- ^a
QDs (2.25) +PtBA											

a) Fora da escala temporal do equipamento

A variação do máximo de emissão com a temperatura foi determinada ajustando os valores experimentais pelo método dos mínimos quadrados, determinando as soluções para a função da equação (6.8) utilizando o software *Matlab® R2009a* (Tabela 6.2).

$$E_g(T) = E_{g(0)} - \alpha \frac{T^2}{(T + \beta)} \quad (6.8)$$

Tabela 6.2. Parâmetros determinados para o ajuste dos resultados experimentais (grau de confiança de 95%).

	$E_{g(0)}$ (eV)	α ($\times 10^{-4}$) (eV/K)	β (K)	R^2	χ^2
QDs (2.25)–PtBA	2.213	6.046	257.3	0.9575	0.001743
QDs (2.25)–PnBA	2.161	2.238	312.0	0.9497	0.0006749
QDs (3.17)–PtBA	2.088	3.715	312.9	0.9912	0.0004515

6.5. Referências

1. *Small sizes that matter: Opportunities and risks of Nanotechnologies*. Report Code: <http://www.oecd.org/dataoecd/37/19/37770473.pdf>.
2. Fievet, F., Lagier, J. P., Blin, B., Beaudoin, B., and Figlarz, M., *Homogeneous and Heterogeneous Nucleations in the Polyol Process for the Preparation of Micron and Sub-Micron Size Metal Particles*. Solid State Ionics, 1989. **32-3**: p. 198-205.

3. Fievet, F., Lagier, J. P., and Figlarz, M., *Preparing Monodisperse Metal Powders in Micrometer and Submicrometer Sizes by the Polyol Process*. MRS Bulletin, 1989. **14**: p. 12.
4. Rockenberger, J., Scher, E. C., and Alivisatos, A. P., *A new nonhydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal oxides*. Journal of the American Chemical Society, 1999. **121**(49): p. 11595-11596.
5. Xu, H., Cui, L. L., Tong, N. H., and Gu, H. C., *Development of high magnetization Fe₃O₄/polystyrene/silica nanospheres via combined miniemulsion/emulsion polymerization*. Journal of the American Chemical Society, 2006. **128**(49): p. 15582-15583.
6. Xia, A., Hu, J. H., Wang, C. C., and Jiang, D. L., *Synthesis of magnetic microspheres with controllable structure via polymerization-triggered self-positioning of nanocrystals*. Small, 2007. **3**(10): p. 1811-1817.
7. Gautam, U. K., Ghosh, M., Rajamathi, M., and Seshadri, R., *Solvothermal routes to capped oxide and chalcogenide nanoparticles*. Pure and Applied Chemistry, 2002. **74**(9): p. 1643-1649.
8. Peng, Z. A. and Peng, X. G., *Formation of high-quality CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals using CdO as precursor*. Journal of the American Chemical Society, 2001. **123**(1): p. 183-184.
9. Yu, W. W., Qu, L., Guo, W., and Peng, X., *Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals*. Chemistry of Materials, 2003. **15**(14): p. 2854-2860.
10. Trindade, T. and O'Brien, P., *Synthesis of CdS and CdSe Nanocrystallites Using a Novel Single-Molecule Precursors Approach*. Chemistry of Materials, 1997. **9**(2): p. 523-530.
11. Glinskaya, L. A., Zemskova, S. M., Klevtsova, R. F., Larionov, S. V., and Gromilov, S. A., *The Preparation, Structures and Thermal-Properties of [Men₃][Cd(S₂cnet₂)₃]₂ [M = Zinc(II), Cadmium(II)] Complexes*. Polyhedron, 1992. **11**(22): p. 2951-2956.
12. Reiss, P., Protiere, M., and Li, L., *Core/Shell Semiconductor Nanocrystals*. Small, 2009. **5**(2): p. 154-168.
13. Rao, C. N. R. and Biswas, K., *Characterization of Nanomaterials by Physical Methods*. Annual Review of Analytical Chemistry, 2009. **2**: p. 435-462.
14. Svergun, D. I., *Determination of the Regularization Parameter in Indirect-Transform Methods Using Perceptual Criteria*. Journal of Applied Crystallography, 1992. **25**: p. 495-503.
15. Zhang, C., Zhang, Z., Yu, B., Shi, J., and Zhang, X., *Application of the Biological Conjugate between Antibody and Colloid Au Nanoparticles as Analyte to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Analytical Chemistry, 2002. **74**: p. 96-99.